

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 1929-1930

N° 5

ENTRAÎNEMENT DES SUCRES ET DES POLYOLS

PAR

LE SULFATE DE CUIVRE ET LA BARYTE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU CARBONE INDOSE
DANS L'URINE NORMALE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

Présentée et soutenue publiquement le 29 Novembre 1929

PAR

PIERRE AMBERT

PHARMACIEN

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Jury { MM. GRIMBERT, *président*
HÉRISSEY, *professeur*
FLEURY, *agrégé*

F L O C H

== MAYENNE ==

— 1929 —

THÈSE

POUR

LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552832_0049

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 1929-1930

N° 5

ENTRAÎNEMENT DES SUCRES ET DES POLYOLS

PAR

LE SULFATE DE CUIVRE ET LA BARYTE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU CARBONE INDOSÉ
DANS L'URINE NORMALE

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS
(PHARMACIE)

Présentée et soutenue publiquement le 29 Novembre 1929

PAR

PIERRE AMBERT

PHARMACIEN

LAURÉAT DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Jury { MM. GRIMBERT, *président*
HÉRISSEY, *professeur*
FLEURY, *agrégé*

F L O C H

== MAYENNE ==

1929

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, *Doyen*, O. *, ☉ I.
 PERROT, *Assesseur*, O. *, ☉ I.
 G. DURSANT, *Secrétaire*, *, ☉ I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. *, ☉ I.	Cryptogamie et Microbiologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, G. O. *, ☉ I.	Chimie organique.
PERROT, O. *, ☉ I.	Histoire naturelle des médicaments.
COUÏÈRE, O. *, ☉ I.	Zoologie.
GRIMBERT, *, ☉ I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. *, ☉ I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. *, ☉ I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, *, ☉ I.	Toxicologie.
BOUGAULT, *, ☉ I.	Chimie analytique.
GORIS, *, ☉ I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, *, ☉ I.	Botanique générale.
TASSILLY, *, ☉ I.	Physique.
DAMIENS, *, ☉ I.	Chimie minérale.

Professeur honoraire : M. A. VILLIERS, *, ☉ I.

CHARGÉS DE COURS

MM. SOMMELET, *, ☉ I.	Minéralogie.
Marc HONNORAT, *, ☉ I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques
LUTZ, *, ☉ I.	Cryptogamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, *, ☉ I.
 LUTZ, *, ☉ I.
 LAUNOY, *, ☉ A.
 HÉRISSEY, *, ☉ I.
 DELABY, *, ☉ A.

MM. PICON, ☉ I.
 FABRE, ☉ A.
 MASCRÉ, ☉ I.
 FLEURY, ☉ I.
 BACH, ☉ I.



CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, ☉ I.	Chimie générale.
FABRE, ☉ A., FLEURY, ☉ I. : <i>agréés</i> , chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, ☉ I.	Micrographie.
LEROUX, ☉ I.	Physique.
DEVAL, ☉ I.	Microbiologie.
HÉRISSEY, *, ☉ I., DELABY, *, ☉ A., et PICON, ☉ I. :	
<i>agréés</i> , chargés des travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, ☉ I.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR L. GRIMBERT

Membre de l'Académie de Médecine
Chevalier de la Légion d'honneur

Hommage respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ P. FLEURY

Pharmacien-chef des Asiles de la Seine

Hommage de respectueuse reconnaissance.

A MA FAMILLE

A MES AMIS

ENTRAÎNEMENT DES SUCRES ET DES POLYOLS

PAR LE

SULFATE DE CUIVRE ET LA BARYTE

INTRODUCTION

Le but principal de ce travail est l'étude de la *réaction de Salkowski* : Celui-ci a montré, en 1879, que si à une solution sucrée additionnée de sulfate de cuivre, on ajoute un excès d'alcali, le sucre se trouve fixé, totalement ou en partie, par le précipité obtenu.

Après Salkowski *Yoshimoto*, en 1908, a étudié les conditions de précipitation de différents sucres par le sulfate de cuivre et la soude. *Van Slyke* a utilisé cette réaction pour éliminer le glucose des urines diabétiques afin de pouvoir y doser l'acide β oxybutyrique. Enfin *Bissinger* en 1926, a montré que l'on pouvait se servir de cette réaction pour isoler le glucose et le lévulose afin de les doser après régénération dans le précipité.

L'étude systématique des conditions d'entraînement des sucres par ce procédé, est exposée dans la deuxième partie de ce travail.

Pour ces recherches nous avons dû mettre en œuvre de nombreuses techniques analytiques : certaines sont classiques mais ont été légèrement modifiées par nous ; d'autres sont récentes et nécessitent la consultation de

journaux périodiques et de revues parfois difficiles à se procurer. Nous les donnons dans la première partie.

Enfin dans la troisième partie nous avons tenté d'appliquer la réaction de Salkowski à l'urine afin de pouvoir en extraire les substances réductrices qui, exprimées pondéralement en glucose, s'y rencontrent normalement à la dose de 0 gr. 25 à 1 gramme par litre, et de les étudier plus facilement.

Avant de commencer l'exposé de notre travail, nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à Monsieur le Professeur Grimbert pour la bienveillance avec laquelle il nous a accueilli dans son laboratoire et qu'il nous a constamment témoignée durant les deux années que nous y avons passées.

Nous remercions aussi Monsieur le Professeur Hérissé d'avoir bien voulu accepter de faire partie du jury de notre thèse.

Nos remerciements iront tout spécialement à Monsieur le Professeur Agrégé Fleury pour les encouragements précieux qu'il nous a prodigués et la constante bienveillance dont il a toujours fait preuve à notre égard. Enfin que MM. Poirot et Malmy trouvent ici l'expression de notre vive gratitude pour l'intérêt qu'ils nous ont témoigné en diverses circonstances.

SOMMAIRE

PREMIÈRE PARTIE

Exposé des méthodes analytiques utilisées au cours du travail.

	Pages
CHAPITRE I. -- Dosage des sucres réducteurs.	
1. Méthode de Lehmann modifiée par Fleury et Boutot	15
2. Méthode de Lehmann modifiée dans le but du dosage de petites quantités de sucres réducteurs . .	23
Tables	19
3. Microméthode de Fontès et Thivolle	28
4. Méthode Bougault-Pauchard	33
CHAPITRE II. -- Dosage des Polyols.	
1. Méthode Fleury-Marque	36
2. Méthode de Hehner modifiée	38
Microméthode	42
CHAPITRE III. -- Conditions d'hydrolyse de certains sucres.	
1. Saccharose	44
2. Raffinose	45
3. Stachyose	46
4. Méthylglucoside	47
CHAPITRE IV. -- Dosages urinaires.	
1. Méthode de Lehmann appliquée à l'urine . .	49
2. Dosage du Carbone total urinaire par la méthode Nicloux	50
3. Dosage de l'Azote total urinaire par la méthode Kjeldahl (<i>technique P. Fleury</i>)	54

DEUXIÈME PARTIE

**Etude de l'Entraînement des sucres
et des Polyols au moyen du sulfate de cuivre
et de la baryte.**

CHAPITRE I. — Etude détaillée du glucose.

INTRODUCTION	57
Essai d'entraînement. Vérification des données de Salkowski	59
I. — Conditions physiques de la précipitation	
1. Influence de la concentration et de la dilution	61
2. Influence du mode opératoire	64
a) Mode d'affusion	64
b) Temps de contact	66
c) Température	67
3. Remarques sur l'état de $\text{Cu}(\text{OH})^2$	67
4. Technique de précipitation	68
5. Phénomène interférent : « La Peptisation »	69
II. — Facteurs chimiques de la précipitation	
1. Influence de l'alcali sur la précipitation	72
1° Influence de la soude	72
2° Influence de la baryte	75
a) Influence sur le glucose fixé	
b) Influence sur l'alcali fixé	
3° Comparaison des influences de la soude et de la baryte	82
2. Influence de la concentration en glucose sur sa fixa- tion	84
3. Glucose restant en solution pour les faibles concen- trations en glucose	87
4. Régénération du glucose du précipité. Bilan	88
5. Conclusions de l'étude du glucose	89
CHAPITRE II. — Lévéulose et Saccharose	
1. Etude du lévulose	91
Influence de la concentration en baryte	92

II. Entraînement après défécation	123
1 ^o Choix d'un défécant	
a) Réactif de Patein-Dufau	124
b) Défécation au sulfate mercurique-baryte.	125
2 ^o Entraînement des substances réductrices à partir des défécats.	
a) Détermination des conditions d'entraînement maximum	128
b) Technique de précipitation et de dissolution des précipités	130
c) Entraînement de glucose introduit dans un défécats	134
d) Labilité des substances réductrices	135
III. Répartition des constituants du défécats entre le liquide surnageant et le précipité cupro-barytique.	137
IV. Conclusions. Bilan	142
 CHAPITRE III. — Tentative d'Identification des principes glucidiques extraits de l'urine normale.	
I. Dosage des principes réducteurs par différentes méthodes	144
II. Formation d'osazone. Polarimétrie.	146
CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET RÉSUMÉ.	152
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.	154

PREMIÈRE PARTIE

EXPOSÉ DES MÉTHODES ANALYTIQUES UTILISÉES AU COURS DE CE TRAVAIL

Avant d'entreprendre l'étude même de l'entraînement des sucres par le sulfate de cuivre et la baryte, il nous paraît utile de faire un exposé des techniques que nous avons utilisées. Cela évitera pour la plupart d'entre elles de se reporter au travail original. D'autre part certaines ont dû subir quelques modifications d'ordre pratique en vue de l'application à notre sujet. Ceci permettra à ceux qui se trouveront dans des circonstances analogues de profiter de l'expérience antérieure.

Les procédés de dosage des sucres réducteurs sont très nombreux. Ceux qui sont habituellement utilisés, sont basés sur la réduction de l'hydrate cuivrique, éthérifié par un acide-alcool, en sous-oxyde de cuivre. Parmi ceux-ci nous avons choisi la méthode Lehmann dans laquelle on dose le sel cuivrique avant et après la réduction.

Les microdosages ont été effectués par la méthode molybdo-manganométrique de Fontès et Thivolle.

Le mannitol et l'inositol ont été évalués par la méthode iodomercurielle rendue applicable au dosage des polyols par MM. Fleury et Marque.

Les corps tels que l'érythritol, le glycérol et le glycol

ne donnent pas de phénomènes réguliers dans les conditions établies par Marque pour doser le mannitol et l'inositol par réduction mercurielle.

Pour ces corps nous avons eu recours à l'oxydation sulfochromique que Hehner a utilisée pour le dosage du glycérol dans les savons, avec la modification de Frachini et Somazi, qui pour doser le bichromate restant, emploient l'iode et l'hyposulfite à la place du sulfate ferreux dont les solutions se conservent mal et qui exige l'emploi d'un indicateur externe.

Il est à remarquer que quelques-unes de ces méthodes, qui sont loin d'être spécifiques, n'auraient pu être utilisées si les liqueurs dans lesquelles nous avons effectué nos dosages, n'avaient été des solutions simples ne contenant pas de substances organiques en dehors des corps à doser et peu de substances minérales dont nous les débarrassions au cours des manipulations.

Les renseignements sur les conditions d'hydrolyse des sucres dédoublables se trouvent difficilement, chaque auteur indiquant une manière différente d'opérer : c'est pour ce motif que nous avons établi nous-même la courbe d'hydrolyse en fonction du temps et les conditions opératoires de l'hydrolyse des sucres dédoublables que nous avons utilisés.

Dans la troisième partie du travail qui comporte l'application à l'urine nous avons déterminé le sort du carbone et de l'azote dans l'entraînement. Les dosages de carbone total ont été effectués par la microméthode de Nicloux et l'azote total urinaire a été évalué au moyen de la technique donnée par M. P. Fleury dans les feuilles de manipulations de chimie biologique. (Travaux pratiques complémentaires Fac. Ph. Paris).

CHAPITRE PREMIER

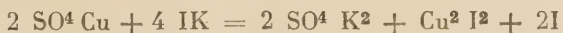
DOSAGE DES SUCRES RÉDUCTEURS

Méthode de Lehmann modifiée par Fleury et Boutot.

Cette méthode basée sur la réduction d'une liqueur cupro-alcaline est une application du titrage du cuivre par le procédé à l'iodure et au sulfocyanure.

Le principe indiqué par de Haen en 1853 est le suivant :

Quand dans une solution acide d'un sel cuivrique (par exemple du sulfate de cuivre), on verse de l'iodure de potassium en excès, l'ion cuivrique est réduit à l'état cuivreux et de l'iode est libéré quantitativement suivant l'équation :



En titrant l'iode libéré, par l'hyposulfite on peut connaître la teneur en cuivre de la solution cuivrique.

En faisant un tel dosage avant et après la réduction par le sucre on a par différence la quantité de cuivre réduit et par suite en se reportant à des tables de correspondance établies expérimentalement la proportion de sucre réducteur.

Depuis la première technique élaborée par Lehmann la méthode a subi de nombreuses modifications dont nous ne retiendrons que les principales.

En 1917 G. Bruhns puis Schoorl et Kolthoff indiquèrent l'emploi du sulfocyanure de potassium pour stabiliser la réaction de libération de l'iode d'une part et aussi pour économiser de l'iodure de potassium.

En 1922 MM. Fleury et Boutot après une étude expérimentale approfondie de l'action de l'iodure et du sulfocyanure de potassium sur l'oxydule et le sulfate de cuivre proposèrent une technique qui subit encore quelques modifications de détail avec le travail de G. Boyeldieu et que nous avons adoptée pour nos recherches.

A. — Réactifs nécessaires.

1. Liqueur cupro-alkaline en deux solutions (1).
2. Sol. d'IK à 20 %.
3. Sol. d' SO_4H_2 à 20 % en vol.
4. Sol. de SCNK à 20 %.
5. Sol. d'Hyposulfite de sodium N/10.
6. Sol. d'amidon soluble à 1 % env.

B. — Mode opératoire.

Il comprend deux parties :

1° Dosage du cuivre total contenu dans 10 centimètres cubes de liqueur cuivrique ;

2° Réduction et dosage du cuivre non réduit.

1° *Dosage du cuivre total.* — Dans une fiole conique de 125 centimètres cubes (Bohème ou Pyrex) on introduit successivement :

1. Sol. A.	{	SO_4Cu crist	40 gr.
		H^2O q.s.p.	1000 cc.
Sol. B.	{	Sel de Seignette pur	200 gr.
		Soude caustique pure	150 gr.
		H^2O q.s.p.	1000 gr.

10 cc. liqueur A	mesurés à la pipette jaugée
10 cc. liqueur B	» » graduée
20 cc. d'eau distillée.	

(volume total : 40 cc.)

On agite pour mélanger et on plonge le flacon jusqu'au col durant dix minutes dans un bain-marie bouillant.

On refroidit sans agiter par un courant d'eau (5 à 10 min.).

Les réactifs suivants ayant été mesurés à l'avance dans deux éprouvettes on les verse immédiatement l'un après l'autre et dans l'ordre :

a) 15 centimètres cubes d'acide sulfurique à 20 % additionnés de 1 centimètre cube d'iodure de potassium à 20 % (inutile de mélanger au préalable l'acide sulfurique et l'iodure de potassium).

b) 10 centimètres cubes de sulfocyanure de potassium à 20 %.

De l'iode se dégage que l'on titre au moyen d'hyposulfite.

Lorsqu'on approche du terme de la réaction, la coloration jaune de l'iode fait place à une coloration mauve surtout au point où la goutte d'hyposulfite atteint le liquide. A ce moment on ajoute environ 10 centimètres cubes de la solution d'amidon.

On continue d'ajouter l'hyposulfite jusqu'à ce que la coloration bleu violacé de l'iodure d'amidon disparaisse et que la goutte d'hyposulfite ne fasse plus tache en tombant dans le liquide. Avec un peu d'habitude on arrive à bien saisir le virage qui est très net pour ce titre de la solution d'hyposulfite.

La coloration finale rose mauve est due à l'action du sulfocyanure sur les traces de fer qui se trouvent dans les réactifs.

Le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite correspondant à 10 centimètres cubes de liqueur A est fixe pour une même solution cuivrique de sorte qu'on n'a pas besoin de répéter plusieurs fois cette première partie du dosage.

2° *Réduction et dosage du cuivre non réduit.* — On opère dans les mêmes conditions que pour le dosage du cuivre total en remplaçant les 20 centimètres cubes d'eau distillée par 20 centimètres cubes de solution sucrée contenant moins de 50 milligrammes de sucre réducteur. Si la solution est trop concentrée on la dilue convenablement. Lorsque l'oxydure est déposé il faut avoir soin de ne pas agiter pour ne pas le mettre au contact de l'air.

Soit n le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite correspondant au cuivre total et n' celui qui correspond au sel cuivrique restant après la réduction, on a $n - n' =$ nombre de centimètres cubes correspondant au cuivre réduit.

En se reportant aux tables on en déduit la quantité de sucre contenu dans la prise d'essai.

Emploi des tables. — Les conditions ci-dessus étant différentes de celles de la méthode G. Bertrand on ne pouvait utiliser ses tables.

Pour le glucose nous avons utilisé la table donnée par P. Fleury dans les feuilles de travaux pratiques complémentaires de chimie biologique calculée d'après celle de Ch. O. Guillaumin publiée dans le *Journal de Pharm. et de Chim.*, t. XXII, 1920, p. 333. Les quantités de réactifs et le mode de chauffage sont en effet les mêmes que ceux employés par cet auteur.

Pour les autres sucres réducteurs étudiés nous avons établi nous-même les courbes de réduction et d'après

elles nous avons dressé les tables que nous publions ci-dessous, avec celle du glucose :

Les chiffres indiquent la quantité du sucre contenu dans la prise d'essai :

Glucose.

Cc. d'Hypo N/10 utilisés	Glucose anhydre en milligrammes correspondant	Milligrammes de glucose à ajouter p. chaque 1/10 de cc. intermédiaire
1	2,80	
2	5,93	0,31
3	9,10	0,32
4	12,30	0,32
5	15,55	0,32
6	18,90	0,33
7	22,30	0,34
8	25,74	0,34
9	29,25	0,35
10	32,86	0,36
11	36,58	0,37
12	40,39	0,38
13	44,29	0,39
14	48,31	0,40

Levulose.

Cc. d'Hypo N/10 utilisés	Lévulose anhydre en milligrammes correspondant	Milligr. de lévulose à ajouter p. chaque 1/10 de cc. intermédiaire
1	3,33	
2	6,66	0,33
3	10,00	0,33
4	13,45	0,35
5	16,90	0,35
6	20,34	0,35
7	24,19	0,38
8	28,04	0,38
9	31,88	0,38
10	35,74	0,38
11	39,58	0,38
12	43,43	0,38
13	47,28	0,38
14	51,12	0,38

Sucre interverti (1).

Cc. d'hypo N/10 utilisés	Sucre interverti en milligr. correspondant	Milligrammes de sucre interv. à ajouter p. chaque 1/10 de cc. interm.
1	3,22	
2	6,43	0,32
3	9,65	0,32
4	13,10	0,35
5	16,55	0,35
6	20,00	0,35
7	23,57	0,36
8	27,14	0,36
9	30,71	0,36
10	34,41	0,37
11	38,12	0,37
12	41,82	0,37
13	45,52	0,37
14	49,22	0,37

Lactose (2) ($1\text{ H}^2\text{O}$).

Cc. d'hypo N/10 utilisés	Lactose hydraté en milligr. correspondant	Milligrammes de lactose à ajouter p. chaque 1/10 de cc. intermédiaire
1	4,29	
2	8,57	0,43
3	12,86	0,43
4	17,50	0,43
5	22,50	0,50
6	27,50	0,50
7	32,42	0,49
8	37,26	0,48
9	42,10	0,48
10	47,45	0,54
11	52,81	0,54
12	58,17	0,54
13	63,52	0,54
14	68,88	0,54

1. Préparation d'une solution à 2‰ de sucre interverti convenant pour la vérification de la table :

{ Saccharose pur. 0 gr. 475 } porter au B. M. bouillant
 { H^2O 50 cc. } durant quinze minutes.
 { HCl XV gttes } Refroidir et neutraliser
 { } par 12 gouttes de lessive
 { } de soude.
 Diluer à 250 cc.

Correspondance entre le saccharose et le sucre interverti :

P. saccharose = p. sucre interverti $\times 0,95$.

2. La réduction par le lactose étant moins rapide qu'avec les autres sucres, laisser 20 minutes dans le B. M. bouillant.

Maltose hydraté (1) (1 H²O).

Cc. d'hypo N/10 utilisés	Maltose hyd. en milligr. correspondant	Milligrammes de maltose à ajouter p. chaque 1/10 de cc. intermédiaire
1	6,00	
2	12,00	0,60
3	18,25	0,60
4	24,50	0,62
5	30,75	0,62
6	37,00	0,62
7	43,25	0,62
8	49,50	0,62
9	55,75	0,62
10	62,00	0,62
11	68,82	0,68
12	75,64	0,68
13	82,45	8,68
14	89,27	0,68

Arabinose ($\alpha_D = + 105^\circ$).

Cc. d'hypo N/10 utilisés	Arabinose en milligr. correspondant	Milligrammes d'arabinose à ajouter p. chaque 1/10 de cc. intermédiaire
1	3,03	
2	6,06	0,30
3	9,09	0,30
4	12,48	0,34
5	15,87	0,34
6	19,26	0,34
7	22,71	0,34
8	26,16	0,34
9	29,60	0,34
10	33,11	0,35
11	36,62	0,35
12	40,13	0,35
13	43,64	0,35
14	47,15	0,35

1 20 minutes de chauffage comme pour le lactose.

Raffinose (+ $5H^2O$) après hydrolyse (1)

Cc. d'hypo N/10 utilisés	Raffinose en milligrammes correspondant	Milligr. de raffinose à ajouter p. chaque 1/10 cc. interméd.
1	3,64	
2	7,27	0,36
3	10,91	0,36
4	14,75	0,38
5	18,60	0,38
6	22,48	0,39
7	26,40	0,39
8	30,32	0,39
9	34,49	0,41
10	38,66	0,41
11	42,91	0,42
12	47,17	0,42
13	51,42	0,42
14	55,68	0,42

Stachyose (+ $4H^2O$) après hydrolyse (1)

Cc. d'hypo N/10 utilisés	Stachyose en milligrammes correspondant	Milligr. de stachyose à ajouter p. chaque 1/10 de cc. intermédiaire
1	3,57	
2	7,14	0,36
3	10,71	0,36
4	14,49	0,38
5	18,26	0,38
6	22,07	0,38
7	25,92	0,38
8	29,76	0,38
9	33,68	0,39
10	37,61	0,39
11	41,53	0,39
12	45,45	0,39
13	49,37	0,39
14	53,29	0,39

(1) Voir plus loin page 45 les conditions d'hydrolyse de ces sucres.

Galactose anhydre

Cc. d'hypo N/10 utilisés	Galactose anhydre en milligrammes correspondant	Milligr. de Galactose. à ajouter p. chaque 1/10 de cc. interméd.
1	3,22	
2	6,45	0,32
3	9,67	0,32
4	13,12	0,34
5	16,57	0,34
6	20,02	0,34
7	23,86	0,38
8	27,71	0,38
9	31,63	0,39
10	35,63	0,40
11	39,63	0,40
12	43,63	0,40
13	47,63	0,40
14	51,63	0,40

**Méthode de Lehmann modifiée dans le but de
doser de petites quantités de sucres réducteurs.**

La méthode Lehmann telle que nous l'avons exposée permet de doser des quantités de sucres réducteurs assez faibles. On dispose en effet de 20 centimètres cubes de liquide pour introduire la solution sucrée qui ne doit pas contenir plus de 50 milligrammes de sucre. Or il est évident que la méthode est le plus sensible pour des quantités moyennes de sucre : entre 10 et 40 milligrammes par exemple (solution de 0,5 à 2 ‰), les chiffres lus sur la burette étant relativement grands par rapport à ceux apportés par les erreurs. Lorsque la solution est trop concentrée, il est simple de la diluer pour tomber dans cette sensibilité optimum, mais au contraire lorsque la prise d'essai de 20 centimètres cubes contient moins de 5 milligrammes de sucre (solution à 0,25 ‰) l'erreur absolue devient assez forte.

Ayant eu à doser de petites quantités de principes réduc-

teurs pour lesquels d'autres microméthodes ne nous donnaient pas satisfaction nous avons été amené à étudier la possibilité de l'utilisation de la méthode au sulfocyanure et à l'iode pour l'évaluation de ces petites quantités.

Idées qui ont guidé cet essai. — Pour sensibiliser une méthode il ne suffit pas de réduire simultanément les quantités de solution ou de réactifs à mettre en œuvre. On n'aboutit ainsi qu'à diminuer la prise d'essai ce qui ne peut présenter d'intérêt que lorsqu'on dispose seulement de peu de liquide pour effectuer le dosage.

D'autre part au fur et à mesure qu'on se rapproche des petites quantités, l'erreur absolue restant la même, l'erreur relative augmente dans des proportions qui rendent parfois la technique inutilisable.

Ce sont ces deux principes qui ont guidé cet essai.

Exposé de la méthode. — Nous avons utilisé les mêmes liqueurs que pour le dosage normal.

Nous avons suivi également le même mode opératoire en changeant toutefois les proportions relatives de liqueur cupro-alkaline et de solution à doser.

Mode opératoire. — Comme dans la macrométhode il comporte :

1° Le dosage du cuivre total;

2° Le dosage du sel cuivrique restant après réduction.

1° *Dosage du cuivre total.* — Dans une fiole conique d'Erlenmeyer de 125 centimètres cubes on place successivement :

Liqueur cuivrique A. . .	5 cc.	} volume total 40 cc.
Liqueur alcaline B . . .	5 cc.	
Eau distillée	30 cc.	

On plonge le flacon dix minutes dans le B-M bouillant. On refroidit sans agiter par un courant d'eau.

On ajoute ensuite rapidement et dans l'ordre les réactifs mesurés à l'avance dans deux éprouvettes à pied :

1^{re} éprouvette { Acide sulfurique à 20 °/o. 15 cc. { (inutile de
Iodure de K à 20 °/o. . 1 cc. { mélanger.)

2^e éprouvette : Sulfocyanure de K à 20 % 10 cc.

De l'iode est libéré que l'on titre par l'hyposulfite N/20. Lorsque la majeure partie de l'iode est consommée on ajoute 2 ou 3 centimètres cubes de solution d'amidon soluble à 1 % et on continue d'ajouter l'hyposulfite jusqu'à ce que la coloration bleue ait disparu. Le virage est très net.

Soit n le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite employés.

2^e *Dosage du cuivre après réduction.* — On opère de même en remplaçant les 30 centimètres cubes d'eau distillée par la solution sucrée contenant moins de 10 milligrammes de glucose.

Soit n' le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite utilisés, $n - n' =$ le nombre de centimètres cubes d'hyposulfite correspondant au cuivre réduit.

En se reportant à la table ci-dessous on a le nombre de milligrammes de glucose contenus dans la prise d'essai.

Glucose.

Cc. d'Hypo N/20 utilisés	Glucose anhydre en milligrammes correspondant	Milligrammes de glucose à ajouter pour chaque 1/10 de cc. intermédiaire
1	1,78	0,18
2	3,65	0,14
3	5,08	0,15
4	6,66	0,16
5	8,32	0,18
6	10,14	

Sensibilité de la méthode et valeur de cette modification.

— En réalité la modification apportée ici à la méthode de Lehmann, en vue de sa sensibilisation, comporte seulement une dilution au $1/2$ du liquide final de Lehmann, soit une dilution au $1/4$ de la liqueur cupro-alcaline. Une double question se posait en faisant cette opération :

1° L'erreur relative ne devient-elle pas trop forte ?

L'expérience a prouvé que non, un grand nombre de dosages ont été effectués et entre deux dosages semblables on obtient sensiblement le même chiffre d'hyposulfite $\frac{N}{20}$ (différence max. une gtte soit 0 cc. 05 : ce qui correspond à une erreur maximum de 5 % pour 2 milligrammes de glucose).

2° La réduction est-elle encore régulière ?

La courbe que l'on obtient en portant en abscisses des quantités croissantes de glucose et en ordonnées les nombres de centimètres cubes d'hyposulfite $N/20$ correspondant, est régulière entre 2 et 10 milligrammes de glucose, zone qui justement nous intéresse car au-dessus nous sommes dans le domaine de la macrométhode.

Sensibilité. — On arrive à doser avec une erreur max. de 5 % 2 milligrammes de glucose dans 30 centimètres cubes ce qui correspond à une solution au $1/15.000^e$. La macrométhode dose au maximum avec la même erreur 4 milligrammes dans 20 centimètres cubes soit une solution au $1/5.000^e$. On peut donc dire que la sensibilité est ainsi triplée.

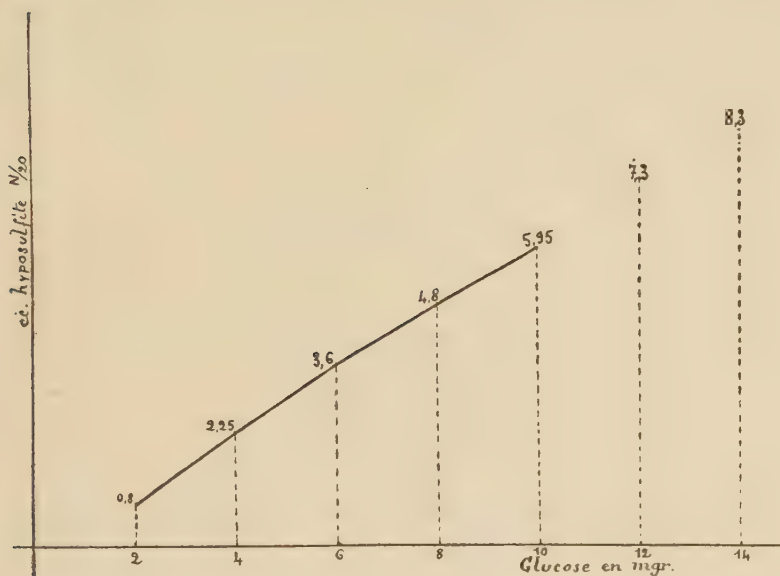


FIG. 1. — Courbe de réduction

Avantages de la méthode de Lehmann. — Après L. BOUTOT et G. BOYELDIEU nous rappellerons les avantages de la méthode à l'iode et au sulfocyanure pour le dosage des sucres réducteurs.

Par sa simplicité et sa rapidité d'exécution, elle nous a permis de faire de nombreux dosages qu'il nous eût été impossible de pratiquer en aussi grand nombre, dans le temps dont nous disposions, au moyen des autres méthodes.

1^e Son exactitude est comparable à celle de la méthode de BERTRAND;

2^e Elle n'utilise que des solutions d'un usage courant dans les laboratoires;

3^e Elle ne nécessite aucune manipulation compliquée, aucun appareillage coûteux, d'où une grande simplicité

et une grande rapidité d'exécution (Il nous est arrivé de faire 20 dosages en moins de deux heures et demie).

Microméthode de Fontès et Thivolle.

Cette microméthode permet le dosage des sucres réducteurs dans des solutions très étendues (jusqu'au 1/30.000^e environ). La solution sucrée est chauffée avec une liqueur cupro-alkaline spéciale, dont les auteurs ont donné la formule (voir plus loin). L'oxydure de cuivre formé est traité ensuite par un réactif phosphomolybdique qui par réduction se colore en bleu. Ce bleu est ensuite titré volumétriquement en le décolorant par une solution titrée de permanganate de potassium, mais ce mode opératoire exige de séparer l'oxydure de cuivre par filtration.

Technique. — Elle comprend deux opérations :

- 1^o Réduction de la solution cupro-alkaline ;
- 2^o Titration de l'oxydure.

1^o Réduction de la solution cupro-alkaline.

a) Préparation de la liqueur cupro-alkaline de Fontès et Thivolle.

Solution A.

Dissoudre à l'ébullition 50 grammes de tartrate acide de potassium très pur (pesés au centigr.) dans 800 centimètres cubes d'acide sulfurique normal. Faire d'autre part une solution de 25 grammes de sulfate de cuivre cristallisé (pesé au centigr.) dans environ 80 centimètres cubes d'eau distillée et ajouter à la précédente. Refroidir. Compléter à 1000 centimètres cubes avec de l'eau distillée. La solu-

tion doit être absolument limpide. Filtrer si c'est nécessaire. Les auteurs ne peuvent pas certifier qu'une telle solution se conserve plus de trois semaines, sans autoréduction.

Dans le doute et pour des besoins modérés, ils préfèrent conseiller d'en faire seulement 100 centimètres cubes.

Solution B.

Sulfate de potassium cristallisé pur à 80 grammes par litre.

Solution C.

Carbonate de potassium pur et sec à 280 grammes par litre.

La liqueur définitive s'obtient en mélangeant au moment de l'emploi et en quantité suffisante pour les besoins immédiats, un volume exactement mesuré à la pipette, de chaque solution dans l'ordre A, B, C.

Bien mélanger avant l'utilisation et ne pas se servir d'une solution vieille de plus de deux heures (autoréduction).

b) Réduction. Dans un tube de 20 centimètres cubes de long sur 20 millimètres de diamètre introduire 5 centimètres cubes de solution sucrée et 2 centimètres cubes de liqueur cupro-alcaline. On prépare un autre tube dans lequel on place 5 centimètres cubes de solution de glucose à 0,10 ‰. Mettre les deux tubes en même temps au bain-marie bouillant; au bout de 20 minutes les retirer et les plonger dans l'eau froide.

Remarque I: — La solution de glucose mentionnée ci-dessus est obtenue en diluant convenablement au moment du besoin une solution de glucose pur à 1 ‰ toluénée

(2 à 3 cc. de toluène pour 100 à 200 c.c. de solution). Très bonne conservation.

Remarque II. — L'oxydule obtenu dans ce procédé peut être considéré comme pratiquement inoxydable. De sorte qu'on peut sans inconvénient attendre une ou deux heures pour pratiquer le dosage.

2° Titration de l'oxydule.

Préparation du réactif phospho-molybdique.

Prendre dans une capsule de porcelaine 20 grammes d'acide molybdique pur ou 40 grammes de molybdate d'ammoniaque pur. Ajouter environ 200 centimètres cubes d'eau et 10 grammes de soude en bâton (acide molybdique) ou 20 grammes (molybdate). Faire bouillir jusqu'à complet départ d'ammoniaque. Ajouter environ 500 centimètres cubes d'eau et 200 grammes d'acide phosphorique cristallisé pur en solution dans au moins 200 centimètres cubes d'eau. Faire bouillir un quart d'heure. Ajouter pendant l'ébullition une solution concentrée de permanganate de potassium goutte à goutte jusqu'à persistance de teinte rosée. Refroidir. Verser goutte à goutte une solution diluée de sulfate ferreux jusqu'à décoloration complète. Compléter au litre.

Dosage volumétrique.

Ce dosage comporte trois temps : 1° filtration de l'oxydule ; 2° sa dissolution dans le réactif phosphomolybdique ; 3° titration du bleu de molybdène formé au moyen d'une solution étendue de permanganate.

I. *Filtration de l'oxydule.* — On utilise l'appareil ci-dessous. Le liquide est aspiré lentement sur un filtre d'amiante préparé comme un filtre Bertrand amianté à fibre dure lavée à l'acide chlorhydrique et broyée au mortier avec

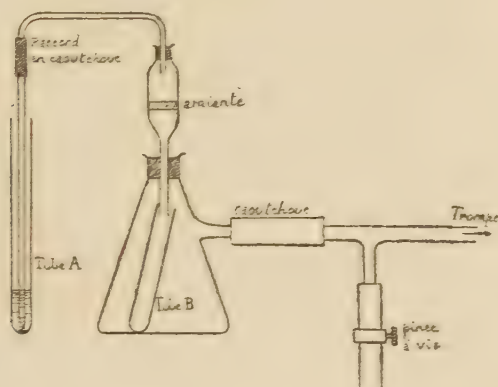


FIG. 2. — Appareil de Fontès et Thivolle modifié.

un peu d'eau, épaisseur 1 cm. environ) dans un tube filtrant portant un diaphragme, constitué par une fine toile de platine (constructeur : Volek, 3 rue de la Chaîne, Strasbourg).

La vitesse de filtration doit être environ de 2 gouttes par seconde. On la règle par l'admission d'air à l'aide de la pince à vis, la trompe marchant à plein débit.

Le filtrat est reçu dans le tube B. Lorsque tout le liquide est ainsi décanté, l'oxydule se trouve, partie au fond du tube à essai A, partie sur le filtre. On ferme alors à bloc la pince à vis de manière à faire passer sur l'oxydule un rapide courant d'air qui sert de lavage. On ne doit jamais laver avec de l'eau. A ce moment on ouvre la pince à vis on retire le tube B qui a recueilli le filtrat et on referme l'appareil.

II. *Dissolution de l'oxydure.* — On verse 3 à 4 centimètres de réactif phosphomolybdique dans le tube A. On agite un peu pour dissoudre et l'on aspire le liquide bleu sur le filtre d'amiante comme ci-dessus. En recommençant 2 ou 3 fois cette opération à l'aide d'environ 2 centimètres cubes de réactif à chaque fois, on arrive à dissoudre en entier l'oxydure. L'opération est terminée lorsque les gouttes qui s'écoulent du filtre sont incolores.

III. *Titration du bleu de Molybdène.* — Elle s'opère à l'aide d'une solution de permanganate à 0 gr. 08 par litre par dilution d'une solution mère à 8 ‰. (Cette solution mère se stabilise au bout de quelques jours et se conserve alors indéfiniment).

Le liquide bleu contenu dans la fiole conique est transvasé quantitativement, en s'aidant d'eau distillée dans une capsule de porcelaine à fond plat (où le virage est beaucoup plus commode à saisir que dans du verre) et l'on y verse peu à peu la solution de permanganate contenue dans une burette de 25 centimètres cubes jusqu'à décoloration totale. Le virage est progressif et pour le saisir il est bon de s'aider d'un témoin (capsule identique contenant un même volume d'eau). L'hésitation porte sur 2 à 3 gouttes.

IV. *Calcul.* — Soit N le nombre de centimètres cubes ainsi versés. En divisant N par le titre du permanganate, on exprime directement en milligrammes de glucose la quantité de sucres réducteurs présents dans le filtrat utilisé.

Le titre du permanganate est le nombre de centimètres cubes utilisé (environ 16 à 18 cc) pour la décoloration du bleu de molybdène produit par la dissolution du sous-oxyde de cuivre obtenu par action d'un milli-

gramme de glucose sur 2 centimètres cubes de liqueur cupro-alcaline pendant vingt minutes au bain-marie. On utilisera 5 centimètres cubes d'une solution de glucose pur et anhydre à 0,20 ‰. On peut entreprendre simultanément un nombre quelconque de dosages, un seul témoin suffit, car contrairement à ce qui se produit avec les autres méthodes, la quantité d'oxydure obtenue (donc de bleu de molybdène) est exactement proportionnelle à la quantité de glucose. Une table est donc inutile, on calcule le résultat par une simple règle de trois.

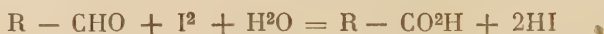
REMARQUE. — La solution mère de permanganate à 8 ‰ se stabilisant au bout de quelques jours, il en résulte que le titre en glucose du permanganate à 0,08 p. ‰ reste constant si on l'obtient en diluant la solution mère toujours de la même façon et ceci tant qu'on n'a pas renouvelé les liqueurs A. B. C. du réactif cupro-alcalin.

Méthode iodométrique de Bougault-Pauchard pour le dosage des aldoses.

Les méthodes de dosage des sucres précédemment exposées sont des méthodes comparatives. Pour connaître la quantité de sucre contenue dans la prise d'essai on est obligé de se reporter à des tables établies expérimentalement. Le principe de ces méthodes est basé sur une réaction complexe que l'on ne peut traduire par une équation chimique simple, ce n'est qu'après un travail expérimental laborieux que l'on est arrivé à fixer la composition des liqueurs afin de rendre la réaction régulière et constante dans les mêmes conditions. Néanmoins le

dosage des sucres réducteurs par les liqueurs cupro-alcalines rend de très grands services car dans beaucoup de cas, il est le seul praticable.

Par contre la méthode iodométrique de dosage des aldoses étudiée par Bougault est basée sur une réaction simple : l'oxydation des aldéhydes par l'iode en milieu alcalin :



La quantité d'iode absorbée est proportionnelle au sucre aldéhydique mis en œuvre. Pauchard a montré qu'il fallait opérer à la température de zéro degré pour que la réaction soit limitée à l'oxydation de la fonction aldéhydique. A la température ordinaire l'iode peut attaquer lentement les fonctions alcool du sucre.

Voici la technique que nous avons adoptée.

Dans deux flacons à large goulot et bouchant émeri de 60 centimètres cubes on place isolément :

1^{er} flacon $\left\{ \begin{array}{l} 5 \text{ cc. de la solution à doser cont. env. } 1 \% \text{ de sucre} \\ 10 \text{ cc. de sol. N/10 d'iode.} \end{array} \right.$

2^e flacon : 10 cc. de $CO^3 Na^2$, $10H^2O$ à 15 $\%$.

On met à refroidir les deux flacons dans la glace. Lorsque la température s'est abaissée à + 1° environ à l'intérieur on verse le contenu du 2^e flacon dans le 1^{er} et on laisse en contact durant 2 h. 30 au minimum, en maintenant la même température.

On acidifie ensuite avec 10 centimètres cubes d'HCl à 15 $\%$ en volume et on dose l'excès d'iode par l'hypo-sulfite N/10 ou N/20.

On calcule la quantité de sucre d'après la quantité d'iode absorbée en se basant sur l'équation indiquée ci-dessus et sans faire de correction :

Pour le glucose 1 centimètre cube d'hyposulfite $\frac{N}{10} =$
 9 milligrammes de glucose.

CHAPITRE II

DOSAGE DES POLYOLS

Méthode Fleury-Marque, par l'iodomercurate en solution alcaline.

Ces deux auteurs ont montré que les solutions alcalines d'iodomercurate de potassium étaient susceptibles d'attaquer non seulement les sucres réducteurs, comme on le savait déjà, mais aussi les sucres non réducteurs et les polyols. Dans des conditions déterminées, la réduction des liqueurs mercurielles est proportionnelle à la quantité de sucre mise en œuvre ce qui permet de les doser.

Principe de la méthode. — On fait agir à chaud la solution du polyol sur une solution alcaline de chloro-iodomercurate de potassium. Du mercure est libéré que l'on dissout dans un excès d'iode. L'iode restant est titré par l'hyposulfite.

Les méthodes de dosage du mercure basées sur sa dissolution dans l'iode (Rupp) présentent de réelles difficultés en raison même de cette dissolution qui est très laborieuse. MM. Fleury et Marque ont imaginé de recevoir le mercure en formation dans une suspension de sulfate de baryte précipité. Dans ces conditions le mercure est très divisé et ne forme pas de globules. La dissolution dans l'iode est alors très rapide.

Réactifs utilisés.

- 1° Solution de chloro-iodo-mercure de K (1);
- 2° Solution de soude caustique à 30 %;
- 3° Solution de SO_4H_2 à 20 % en vol. (SO_4H_2 pur, d. = 1,84);
- 4° Suspension de SO_4Ba précipité à 10 %;
- 5° Solution décimale d'iode;
- 6° Solution décimale d'hyposulfite;
- 7° Solution d'amidon soluble à 1 % (+ 0 gr 10 HgCl_2 p. litre).

Mode opératoire. — Dans un Erlenmeyer de 125 centimètres cubes on introduit successivement.

Solution mercurielle	7 cc. 5
NaOH à 30 %	10 cc.
Suspension de SO_4Ba à 10 %	10 cc. (2)
Solution à doser + H_2O	10 cc. (volume final 37 cc. 5).

On plonge le flacon dans un bain-marie bouillant durant quarante-cinq minutes exactement. On refroidit sans agiter par un courant d'eau et on ajoute 20 centimètres cubes de SO_4H_2 à 20 %. On refroidit de nouveau et on ajoute enfin 20 centimètres cubes de solution décimale d'iode exactement mesurés. On provoque la dissolution du mercure en agitant. Quand elle est totale (5 à 10 min.) on titre l'excès d'iode par l'hyposulfite $\frac{N}{10}$.

Calculs. — La quantité de mercure qui se dépose et par suite la quantité d'iode absorbée est proportionnelle

1.	Nessler concentré }	HgCl_2	108 gr 4.
		IK.	288 gr.
		H_2O q. s. p.	1000 cc.

2. On peut augmenter la marge d'introduction du liquide à doser en remplaçant les 10 centimètres cubes de suspension de SO_4Ba par 1 gramme de SO_4Ba précipité. On dispose alors de 20 centimètres cubes pour l'introduction de ce liquide. Le volume final peut d'ailleurs être de 40 centimètres cubes sans inconvénient.

au polyol mis en œuvre lorsque celui-ci n'atteint pas plus de 20 milligrammes.

Voici le nombre de centimètres cubes d'iode N/10 correspondant à 10 milligrammes de chaque polyol étudié.

Mannitol.	7 cc. 34
Dulcitol	6 cc. 86
Inositol	7 cc. 39
Glycol	7 cc. 06

Cette méthode nous a donné des résultats relativement très constants. Nous avons eu l'occasion de l'utiliser pour le dosage du Mannitol et de l'Inositol et enfin en l'appliquant à l'urine elle nous a permis de déceler certains principes qui n'avaient aucune action sur les solutions cupro-alcalines.

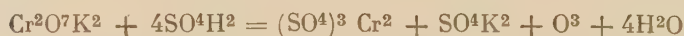
Méthode de Hehner

Oxydation sulfochromique

(modification de Frachini et Somazi)

Cette méthode a été utilisée par Hehner pour doser le glycérol. En réalité elle est applicable à tous les corps qui sont oxydés complètement par le mélange sulfochromique (Th. von Fellenberg. *Biochem. Zeits.* 1927, **188**, 365-371).

Principe. — Le bichromate de potassium en milieu sulfurique dans certaines conditions de température et de concentration est susceptible de se décomposer suivant l'équation :



Si l'on fait agir sur le mélange sulfochromique un corps oxydable tel que le glycérol il se forme donc quantitativement du sulfate de sesquioxyde de chrome. Si l'on dose le bichromate avant et après l'expérience on peut déter-

miner la quantité d'oxygène absorbé et par suite le poids du corps oxydé. Hehner dosait le bichromate au moyen du sulfate ferreux. Frachini et Somazi pratiquent le dosage iodométrique (Treadwell. Boll. p. 598) dont le principe est le suivant :

Si l'on traite une solution acide d'IK par du bichromate de K l'anion $\text{Cr}^{2}\text{O}^{7--}$ est transformé quantitativement à froid en cation Cr^{+++} vert avec mise en liberté d'une quantité d'iode équivalente.



On titre l'iode libéré par l'hyposulfite.

Nous avons modifié légèrement la technique de ce dernier dosage (donné par Treadwell) en introduisant en même temps que l'iodure de potassium du sulfocyanure qui a pour effet de solubiliser l'iode et d'empêcher les pertes par volatilisation. De plus la réaction est « tamponnée » et le virage est beaucoup plus net (pas de rebleuissement). On pourrait d'ailleurs arriver au même résultat en mettant un gros excès d'iodure mais le sulfocyanure est plus économique.

Réactifs nécessaires.

- 1° Solution normale de $\text{Cr}^{2}\text{O}^{7}\text{K}^{2}$ à 47 gr. 083 par litre (1);
- 2° $\text{SO}^{4}\text{H}^{2}$ pur, $d = 1,84$ (2);
- 3° Solution d'iodure de potassium à 200/0;
- 4° Solution de Sulfocyanure de K à 20 %;
- 5° Solution d'Amidon soluble à 1 % + (10 mgr. p. 100 cc. Hg Cl^{2}).

1. Pour faire la solution normale de bichromate on pèse environ 51 grammes de $\text{Cr}^{2}\text{O}^{7}\text{K}^{2}$ pur et on titre la solution par la méthode iodométrique en ayant soin de faire bouillir au préalable les 10 centimètres cubes de prise d'essai avec 4 centimètres cubes de $\text{SO}^{4}\text{H}^{2}$ pur pendant 15 minutes au réfrigérant ascendant. Les causes d'erreur dues aux impuretés oxydables des réactifs sont ainsi évitées. On ajuste ensuite pour avoir une solution normale. La solution baisse de titre au bout d'un certain temps. La conserver à l'obscurité.

2. Se servir du même acide sulfurique pour tous les dosages.

Mode opératoire. — Ce dosage comprend deux opérations :

1° Oxydation sulfochromique.

Dans un ballon de Kjeldahl de 100 centimètres cubes on introduit successivement :

- 5 cc. de solution à doser (à 1°/0 env. de concentration)
- 10 cc. de $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}^2$ normale
- 5 cc. de SO_4H^2 pur (1).

On fait bouillir au réfrigérant ascendant *incliné* à 45°, afin que les projections qui pourraient se produire n'atteignent pas le bouchon, pendant 15 minutes (2). On refroidit sous un courant d'eau et l'on fait passer quantitativement le liquide de la réaction dans une fiole jaugée de 100 centimètres cubes bouchant émeri. On complète à 100 centimètres cubes avec de l'eau distillée (dilution 1/10).

2° Dosage du bichromate restant.

On prélève 10 centimètres cubes de cette dilution que l'on place dans une fiole conique de 100 centimètres cubes. On y ajoute 1 centimètre cube de solution d'iodure de potassium à 20 % et 5 centimètres cubes de solution de sulfocyanure à 20 %. L'iode se dégage et on titre par l'hyposulfite décimormal en se servant de la solution d'amidon comme indicateur. Le virage est net malgré la coloration verte du sel de chrome formé.

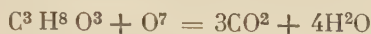
1. D'après les indications de Hehner nous conservons toujours une proportion d'acide sulfurique de 25% en volume dans le volume final, acidité favorable pour l'attaque des corps à doser mais qui cependant n'est pas suffisante pour provoquer le départ de l'oxygène avec le bichromate seul. Par conséquent si l'on met 2 centimètres cubes de solution à doser on ajoutera seulement 4 centimètres cubes de SO_4H^2 . Pour 8 centimètres cubes on mettra 6 centimètres cubes de SO_4H^2 .

2. Lawrie conseille le B. M. pendant deux heures, mais une série d'expériences en fonction du temps nous a prouvé qu'après 15 minutes d'ébullition au réfrigérant ascendant l'oxydation était complète [16].

Calculs. — La dilution au 1/10 effectuée au cours du dosage simplifie les calculs en établissant la correspondance entre les solutions de bichromate et d'hyposulfite.

Supposons que l'on ait trouvé 4 cc. 8 d'hyposulfite N/10. y aura donc 5 cc. 2 de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ normal transformé.

1° Dosage du glycérol. — Une molécule de glycérol exige 7 atomes d'oxygène pour être brûlée complètement :



Une molécule de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ donne 3 atomes d'oxygène donc 1 molécule de glycérol correspond à $\frac{7}{3}$ molécules de bichromate.

Or la solution normale de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ (1) contient 1/6 de molécule, la solution correspondante de glycérol sera donc

de $\frac{1 \times 3}{6 \times 7} = \frac{1}{14}$ de molécule soit à 6 gr. 571 par litre.

1cc. de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ N $\longrightarrow$ 6 mgr. 571 de glycérol

2° Dosage du glycol (2).

1cc. de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ N $\longrightarrow$ 6 mgr. 2 de glycol

3° Dosage de l'érythritol.

1cc. de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ N $\longrightarrow$ 6 mgr. 78 d'érythritol

Remarques sur ce dosage. — Tel qu'il vient d'être exposé le dosage des corps organiques susceptibles d'être complètement oxydés par le mélange sulfochromique est rigoureux. Néanmoins il n'est applicable que lorsque le milieu

1. Par rapport à son pouvoir oxydant.

2. Il est à remarquer que nous disposons de la méthode Fleury-Marque pour doser ce corps, mais en solution pure la méthode présente est plus rigoureuse.

dans lequel on pratique le dosage ne contient pas d'autre substance organique et il faut éviter d'en introduire au cours de la manipulation (réactifs, bouchons, récipients, phtaléine, etc.).

Nous donnons dans le tableau ci-dessous les chiffres que nous avons obtenus pour le dosage du glycérol (1).

Glycérol introduit en mgr.	Glycérol trouvé en mgr.	Erreur
50	49,94	— 0,12 %
100	99,5	— 0,5 %
150	151,1	+ 0,7 %

Limite de sensibilité de la méthode. — La précision de cette méthode permettait d'espérer le dosage de très petites quantités. L'expérience a donné pleine satisfaction. Voici la technique élaborée pour le dosage de petites quantités. Elle est la même que dans la macrométhode. Seul le titre de $\text{Cr}^{2}\text{O}^{7}\text{K}^{2}$ change.

Mode opératoire. — Dans le ballon de Kjeldahl de 100 centimètres cubes on introduit successivement :

Sol. à doser (à 1°/100 env.). 5 cc.

$\text{Cr}^{2}\text{O}^{7}\text{K}^{2}$ N/10. 10 cc.

$\text{SO}^{4}\text{H}^{2}$ pur. 5 cc. (toujours 1/4 en volume).

On fait bouillir pendant 15 minutes au réfrigérant ascendant incliné à 45°. On refroidit et on ajoute environ 20 centimètres cubes d'eau. On titre le bichromate restant par la méthode iodométrique directement dans le ballon de Kjeldahl et sans autre dilution en opérant avec l'hypo-sulfite N/20.

1. La solution type de glycérol a été faite au moyen de glycérol cristallisé chimiquement pur.

On pratique également une opération à blanc sans substance organique ce qui donne un chiffre de correction,

Calculs 1cc. $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2 \text{ N}/10 \longrightarrow 0 \text{ mgr. } 6571 \text{ Glycérol}$

« $\longrightarrow 0 \text{ mgr. } 62 \text{ Glycol}$

« $\longrightarrow 0 \text{ mgr. } 678 \text{ Erythritol}$

Voici les résultats que nous avons obtenus :

Quantité introduite en mgr.		Quantité trouvée en mgr.	Erreur
GLYCÉROL	1 mgr.	0,95	— 5 %
		0,94	— 6 %
		0,95	— 5 %
	2	2,07	+ 3,5 %
	5	4,96	— 0,8 %
GLYCOL	5	4,93	— 1,4 %
		4,90	— 2 %

Nous voyons par ces différentes expériences que l'oxydation sulfo-chromique peut être utilisée pour le dosage du glycérol et du glycol pour les petites quantités comme pour les grandes et l'on arrive même à doser 1 milligramme de glycérine dans 10 centimètres cubes (sol. à 1 p. 10.000) avec une erreur qui ne dépasse guère 5 %, les différents chiffres obtenus ne donnant entre eux que des erreurs voisines de 1 %.

CHAPITRE III

CONDITIONS D'HYDROLYSE DE CERTAINS SUCRÉS

L'hydrolyse des sucres dédoublables peut être pratiquée par deux agents de nature différente : les ferments et les acides étendus. L'hydrolyse fermentaire n'est pratiquée que dans des cas spéciaux et le plus habituellement on a recours aux acides étendus.

L'hydrolyse acide dépend essentiellement de trois facteurs :

- 1° La concentration en ions H ;
- 2° La température ;
- 3° Le temps.

Sauf pour le saccharose, les auteurs donnent des conditions opératoires différentes pour cette hydrolyse. Suivant que l'on s'adresse aux uns ou aux autres, l'acidité, le mode, le temps de chauffage varient. Aussi il nous paraît intéressant de publier ici les résultats que nous avons obtenus dans l'étude des conditions d'hydrolyse des sucres que nous avons utilisés.

1° Saccharose.

Nous rappellerons seulement les conditions de ce dédoublement :

- 1° Acidité env. 2 % par HCl ou SO_4H^2 ;
- 2° Temps de chauffage : 12 à 15 minutes au B-M bouillant, concentration en sucre jusqu'à 5%.

2° Raffinose.

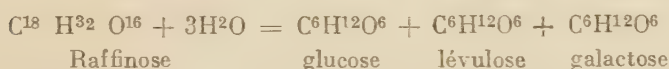
Le Raffinose ou mélitriose est extrait soit des mélasses, soit du tourteau de coton.

L'hydrolyse, suivant qu'elle est faible ou forte peut donner deux sortes de produits :

L'hydrolyse faible donne du lévulose et du mélibiose.

Si l'on acidifie plus fortement le mélibiose se dédouble à son tour en glucose et galactose.

De sorte qu'une molécule de Raffinose peut donner 1 mol. de glucose + 1 mol. de lévulose + 1 mol. de galactose.



Voici les résultats en fonction du temps que nous avons obtenus en ayant une acidité de 2%, en vol. (SO⁴H³). Comme chauffage nous avons pratiqué l'ébullition au réfrigérant ascendant.

Nous donnons aussi, comparativement quelques expériences faites en employant le B-M : Dans un ballon à long col de 50 centimètres cubes on introduit :

Sol. de Raffinose à 10 %	1 cc.
SO ⁴ H ² à 20 % en vol	1 cc. 5
H ² O	12 cc. 5

On porte à l'ébullition durant des temps variables, on refroidit par un courant d'eau et neutralise par 18 gouttes de lessive de soude.

On transvase quantitativement dans une fiole jaugée de 50 centimètres cubes et complète au trait. On pratique ensuite le dosage des sucres réducteurs formés sur 10 cc. de prise d'essai.

Temps	Nombre de Cc. d'hyposulfite N/10 correspondant au Cu réduit	
	B. M.	Ebullition
15 minutes	"	5 cc. 2
30 minutes	"	5 cc. 5
1 heure	5 cc. 25	5 cc. 5
2 heures	5 cc. 4	5 cc.

Le tableau ci-dessus donne également les chiffres obtenus en opérant au B-M bouillant.

Après cette série d'expériences nous avons adopté le temps de 30 minutes d'ébullition au réfrigérant ascendant.

3° Stachyose

Le Stachyose est retiré des croques du Japon (*Stachys tuberosa*). C'est un tétrose qui cristallise avec 4 molécules d'eau : $C^{24}H^{42}O^{11}$, $4H^2O$. L'hydrolyse forte d'une molécule de stachyose donne une molécule de glucose, une molécule de lévulose et deux molécules de galactose.

Dans le tableau ci-dessous nous indiquons les résultats que nous avons obtenus en faisant le dosage par la méthode Lehmann d'une solution de stachyose à 2 ‰ hydrolysée dans les mêmes conditions que le Raffinose (voir ci-dessus).

Temps	Cc. d'hyposulfite
15 minutes	5,2
30 minutes	5,55
1 heure	5,55
2 heures	5,25

Après ces essais le temps de 30' (ébullition au réfrigérant ascendant) a été adopté pour l'hydrolyse.

4° Méthylglucoside β .

C'est un glucoside synthétique qui traité par les agents hydratants régénère ses constituants : le glucose et l'alcool méthylique. Nous avons pratiqué sur ce corps l'hydrolyse forte comme pour les deux sucres précédents et l'expérience nous a montré qu'il fallait un temps quatre fois plus long pour arriver au dédoublement total.

La courbe montre le dédoublement régulièrement progressif avec le temps et le tableau indique les résultats obtenus.

Temps	Ct. d'Hypo N/10 correspondant au Cu réduit
15'	1,35
30'	2,45
45'	3,15
1 h.	3,8
1 h. 15'	4,3
1 h. 30'	4,7
1 h. 45'	4,85
2 h.	5

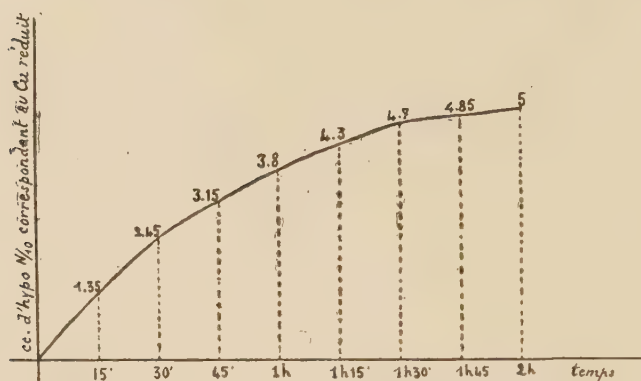


FIG. 3. — Courbe d'hydrolyse du méthylglucoside β .

Dosage du méthylglucoside β . — Comme l'hydrolyse donne du glucose on se sert de la table de ce sucre pour le calcul du dosage du méthylglucoside.

Le poids moléculaire du méthylglucoside (+ 1 H²O) étant 212 et celui du glucose 180 on a :

$$p \text{ méthylglucoside} = \frac{p \text{ glucose} \times 212}{180} = p \times 1,18$$

CHAPITRE IV

DOSAGES URINAIRES

La méthode de Lehmann appliquée à l'urine.

Cette méthode dont nous avons apprécié tout l'intérêt présente dans le cas du dosage du sucre urinaire certaines particularités qu'il convient de noter. Il s'agit de la défécation de l'urine.

Les défécants au plomb sont à rejeter car ils peuvent entraîner une certaine quantité de sucre.

Le nitrate mercurique (réactif de Patein) que l'on emploie couramment ne convient pas davantage dans ce cas. En effet, lorsqu'on élimine le mercure par le zinc les nitrates sont réduits partiellement en nitrites qui gênent le dosage à l'iodure en empêchant le terme de la réaction (libération continue et catalytique d'iode).

Par contre le sulfate mercurique est le défécant de choix. Nous allons indiquer brièvement la technique décrite par M. Fleury (1).

Défécation au sulfate mercurique. — Dans une fiole jaugée de 100 centimètres cubes on introduit 50 centimètres cubes d'urine mesurés à la pipette et 25 centi-

1. Travaux pratiques complémentaires de chimie biologique.

mètres cubes de réactif au sulfate de mercure (1). On ajoute III ou IV gouttes de phénol phtaléine et peu à peu de la lessive de soude pure à 36° Baumé (15 cc. env.) jusqu'à coloration rose que l'on fait disparaître par quelques gouttes d'acide acétique. On complète à 100 centimètres cubes.

On filtre aussitôt sur un filtre à plis placé dans un entonnoir de 9 centimètres au-dessus d'un vase de 125 centimètres cubes qui contient environ 4 grammes de zinc pulvérisé.

Si l'on agite fréquemment, le mercure est éliminé au bout de quinze minutes. On s'en assure en portant une goutte du liquide et 1 goutte d'HCl normal sur un petit fragment de tournure de cuivre. Il ne doit plus se former de tache blanche. On filtre et l'on effectue le titrage sur cette dilution au demi.

Dosage du carbone total urinaire par la méthode de Nicloux.

Nous décrirons brièvement cette méthode qui présente un intérêt certain pour le dosage du carbone. Les renseignements complémentaires se trouveront au *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1927, **9**, 639-677 et 1928, **10**, 1271-1272).

Principe. — La substance organique est attaquée dans un appareil spécial par le bichromate de potassium et

1. Mettre dans un ballon et dans l'ordre :

Oxyde jaune de mercure	200 gr.
H ² O	750 cc.
- Ajouter petit à petit et en agitant :

SO ⁴ H ² pur (d = 1,84)	175 cc.
---	---------
- Agiter jusqu'à dissolution (il reste un léger résidu).
- Laisser refroidir, compléter à 1.000 cc. et filtrer.

l'acide sulfurique en présence d'un sel d'argent comme catalyseur. L'acide carbonique dégagé est absorbé par une solution alcaline dans laquelle on le dose.

Réactifs utilisés.

Bichromate de K pur pulvérisé.

Bichromate d'Ag.

Sulfate de soude anhydre.

Solution de KOH environ 2N décarbonatée.

SO^4H^2 concentré pur ($d = 1,84$).

Solution de KOH N/20.

Solution de HCl N/20.

Eau distillée privée de CO_2 .

• Solution de Cl^2Ba à 10 %.

Préparation du bichromate d'Ag. — Mélanger les deux solutions suivantes :

A	{	NO_3Ag	5 gr.	B	{	$\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}^2$	5 gr.
		H_2O	25 c.c.			H_2O	75 c.c.

Filtrer sur entonnoir de porcelaine perforée. Laver avec 5 à 10 centimètres cubes d'eau et dessécher à 110-115°. On recueille environ 5 grammes.

Sulfate de soude anhydre. — On dessèche à l'étuve à 30°, puis on calcine. Le produit obtenu est très fin et à l'aspect de l'amidon.

Solution de KOH environ 2N décarbonatée. — Dissoudre 150 grammes de KOH pure dans un litre d'eau. Ajouter environ 100 centimètres cubes d'eau de baryte à 10 % et en léger excès. Laisser refroidir; décantier. Conserver à l'abri de l'acide carbonique de l'air.

SO^4H^2 concentré pur. — Cet acide doit être aussi concentré et aussi pur que possible.

Solution de $\text{KOH } \frac{\text{N}}{20}$ et de $\text{HCl } \frac{\text{N}}{20}$. — Ces solutions seront préparées par les méthodes classiques et colorées comme l'indique Pregl par le rouge de méthyle (1).

Appareil et mode opératoire. — La figure ci-contre dispense d'une longue description.

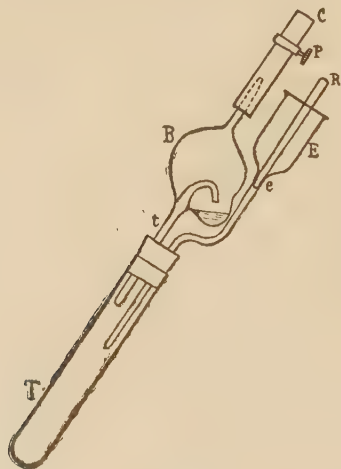


FIG. 4. — Appareil de Nicloux.

Dans le tube T on introduit 0 cc. 3 d'urine puis 50 à 60 milligrammes de bichromate d'argent et 220 à 240 milligrammes de $\text{Cr}^3 \text{O}^7 \text{K}^2$. On ajoute enfin environ 0 gr. 60 de sulfate de soude desséché.

Dans la boule B on place 0 cc. 4 à 0 cc. 5 de $\text{KOH } 2 \text{ N}$ décarbonatée au moyen d'une pipette dont l'extrémité effilée pénètre dans le tube supérieur. On met 1 goutte d' $\text{SO}^4 \text{H}^2$ au rodage de la tige R (en e) et on fait le vide dans l'appareil au moyen d'une bonne trompe (vide de 15 à 20 mm. de Hg). On plonge le tube T dans le B-M

1. Triturer 0 gr. 10 environ de rouge de méthyle avec quelques gouttes de soude N/20. Ajouter III à V gouttes de l'indicateur ainsi préparé par litre de solution acide ou alcaline.

bouillant de manière à dessécher le magma. L'humidité passe dans la boule B qui est refroidie par un jet de pissette. On retire du B-M et on fait arriver 5 à 6 centimètres cubes d' SO^4H^2 pur par le tube à entonnoir E. On chauffe doucement pour procéder à l'attaque qui dure une dizaine de minutes. CO^2 qui se dégage est absorbé par la potasse. On facilite l'absorption en agitant de temps en temps. La réaction est terminée lorsqu'on commence à apercevoir les vapeurs blanches d' SO^3 . On ouvre alors la pince à vis, détache la boule B du reste de l'appareil et fait passer quantitativement son contenu dans un tube de centrifugeuse d'urologie au moyen d'eau distillée privée de CO^2 (10 à 15 cc.). On bouche incomplètement et on porte le tube au B-M bouillant pendant 2 minutes. Le carbonate est alors précipité par 2 centimètres cubes de sol. de Cl^2Ba à 10 % bouillante. On centrifuge et décante le liquide clair surnageant. Le précipité est lavé 2 fois à l'eau bouillante (10 cc.) par centrifugation et décantation.

On le dissout ensuite dans 10 centimètres cubes d' HCl N/20, et vide quantitativement le contenu du tube dans une fiole conique de 50 centimètres cubes. On porte à l'ébullition et titre l'excès d' HCl par la KOH N/20.

Le dosage comporte préalablement l'établissement d'un chiffre de correction à cause du carbone que peuvent contenir les réactifs. (SO^4H^2 , Bichromates, SO^4Na^2 , etc). On détermine ce chiffre par un dosage à blanc.

Calculs.— Un centimètre cube de KOH N/20 correspond, à 0 mgr. 3 de carbone. Supposons que l'on ait une tombée de burette de 5 cc. 7, le chiffre de correction étant 0 cc. 2 on aura :

KOH N/20	HCl N/20	Chiffre corrigé ($x_{0,3}$)	Carbone de la prise d'essai :
5 cc. 7	→ 4 cc. 3	→ 4 cc. 1	→ 1 mgr. 23

Sensibilité. — D'après Nicloux les erreurs de la méthode pratiquée sur des corps purs ne dépassent pas 1 à 2 %.

Dosage de l'azote total urinaire (méthode de Kjeldahl).

Principe. — Transformation de l'azote de l'urine en ammoniacque sous l'influence de l'acide sulfurique concentré bouillant. On dose l'ammoniacque formé.

Parmi les nombreuses techniques proposées on doit donner la préférence à celles qui, tout en restant exactes, sont les plus rapides. La suivante répond à ces conditions. Elle ne met en œuvre que des volumes très petits d'urine 0 cc. 25 ou 0 cc. 50, d'où destruction rapide. On distille l'ammoniacque que l'on titre au moyen d'un acide.

Technique. — Distillation de l'ammoniacque.

1^{re} Phase (Destruction de la matière organique). — Dans une fiole jaugée de 100 centimètres cubes mesurer 5 centimètres cubes d'urine et compléter à 100 centimètres cubes. Dans un ballon de Kjeldahl de 30 centimètres cubes en Pyrex (ou même dans un tube à essai en Pyrex de 20 cm. sur 20 mm.) mettre 5 centimètres cubes d'urine diluée (0 cc. 25), 1 centimètre cube d'acide sulfurique pur, 0 gr. 20 à 0 gr. 25 de sulfate de potasse pur et une bille de verre et faire bouillir rapidement de façon à chasser l'eau, puis lorsque les vapeurs blanches apparaissent baisser la flamme de manière que le ballon reste à peu près rempli de vapeurs blanches sans que celles-ci s'échappent. Noter l'heure à laquelle la liqueur brunâtre est devenue incolore et chauffer encore 5 à 8 minutes.

2^e Phase. — Laisser refroidir, et ajouter alors d'un seul coup 3 centimètres cubes d'eau et introduire avec précaution le liquide dans le ballon de l'appareil distillatoire de Pregl avec 11 gouttes de phénol phtaléine. Rincer le Kjeldahl 3 ou 4 fois avec 3 ou 4 centimètres cubes d'eau très soigneusement en versant les eaux de lavages dans le ballon de Pregl, fermer l'appareil et ajouter par le tube abducteur à l'aide d'un tube de caoutchouc 4 centimètres cubes de lessive de soude. Remplacer alors le tube de caoutchouc par le tube amenant la vapeur d'eau du générateur que l'on a amené pendant ce temps à vive ébullition.

Recueillir l'ammoniaque qui ne tarde pas à distiller dans un vase à précipité contenant déjà une vingtaine de centimètres cubes d'eau (de façon à immerger le tube plongeur) additionnée de 11 gouttes d'alizarine sulfoconjuguée (1). On neutralise l'ammoniaque au fur et à mesure de sa distillation en y versant à l'aide d'une burette graduée une solution acide N/50 jusqu'à ce que la teinte de virage se maintienne. On juge ainsi la fin de la distillation qui demande dix à douze minutes. Soit N le volume lu.

REMARQUE. — Il est indispensable de faire une opération à blanc pour tenir compte de l'ammoniaque contenu dans les réactifs.

$$1 \text{ cc. de solution acide } \frac{N}{50} = 0 \text{ mgr. 28 d'azote}$$

$$\begin{aligned} \text{d'où Azote en gr. par litre d'urine } & N \times 0 \text{ gr. } 00028 \times 4000 \\ & = N \times 1,12 \end{aligned}$$

1. Ce colorant est jaune en milieu acide et violet permanganate en milieu alcalin.



DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DE L'ENTRAÎNEMENT DES SUCRES ET DES POLYOLS AU MOYEN DU SULFATE DE CUIVRE ET DE LA BARYTE

INTRODUCTION

Le phénomène découvert par Salkowski et dont nous avons donné plus haut le principe (1) a été étudié systématiquement mais pour des raisons d'ordre pratique nous avons utilisé la baryte au lieu de la soude. L'expérience a montré comme nous le verrons plus loin que cette substitution n'est pas indifférente. Quoiqu'il en soit opérant d'abord exclusivement avec le glucose nous avons envisagé la réaction à un double point de vue :

1° *Pratique*. — Dans quelles conditions faut-il se placer pour avoir le meilleur entraînement ?

2° *Théorique*. — Mécanisme de la précipitation. Composition et nature du précipité.

Mais nous nous sommes aperçu rapidement que, avant cette étude systématique, il était nécessaire d'élucider les conditions même de la précipitation : l'ordre et le mode

1. Voir page 7.

d'affusion des réactifs : le temps de contact etc., comme l'avaient déjà remarqué Salkowski et ses élèves.

Pour simplifier cet exposé que complique la multiplicité des phénomènes observés nous croyons devoir donner dans un premier chapitre, un exposé systématique de notre travail sur le glucose; de plus nous ferons intervenir parfois des expériences faites avec d'autres sucres parce qu'elles nous paraissent plus démonstratives.

Dans les chapitres suivants nous nous sommes préoccupés de généraliser cette réaction aux autres sucres d'abord, puis aux polyols. Nous ferons ressortir pour chacun d'eux les phénomènes particuliers qui se produisent lorsqu'on leur applique la réaction de Salkowski.

CHAPITRE PREMIER

GLUCOSE

ESSAI D'ENTRAÎNEMENT. — VÉRIFICATION DES DONNÉES DE SALKOWSKI

Notre point de départ est comme nous l'avons déjà dit le travail de Salkowski. Cet auteur avait remarqué qu'il faut un excès d'alcali pour qu'il y ait entraînement. Il avait établi les proportions optima suivantes en employant la soude (1):

1 molécule de glucose
5 molécules de SO^4Cu
11 molécules de NaOH

Notre premier soin fut de vérifier les données de Salkowski en employant la baryte au lieu de la soude, et d'obtenir dans ces conditions un entraînement maximum.

Dans une fiole jaugée de 100 centimètres cubes on introduisit :

1 mol. glucose	—————→	2 cc. glucose à 10 % (200 mgr.).
5 « SO^4Cu	—————→	7 cc. SO^4Cu , 5 H_2O à 20 % (1 gr., 40).
5,5 « Baryte (bivalente)	—————→	66 cc. Baryte $\frac{\text{N}}{5,45}$
puis H_2O q. s. p. 100 cc.		

Après filtration l'excès de baryte fut éliminé par 0 gr. 25 de sulfate de soude pulvérisé. Dans le filtrat il y avait

1. On trouvera page 62 le détail de cette expérience que nous avons répétée.

encore 18 milligrammes de glucose. Nous avons alors augmenté la concentration en SO^4Cu et Baryte par rapport au glucose en mettant :

1 mol. glucose	→	2 cc. glucose à 10 %.
7 « SO^4Cu	→	9 cc. 8 SO^4Cu à 20 °/o.
7,7 « Baryte	→	94 cc. Baryte N/5,45.

La quantité de glucose restant dans le filtrat était cette fois négligeable (env. 3 mgr.).

Une série d'expériences en maintenant fixes les proportions de glucose et de sulfate de cuivre et en faisant varier la proportion de baryte nous a permis de voir qu'*un excès d'alcali est absolument nécessaire*. Plus le filtrat se rapproche de la neutralité moins il y a de glucose entraîné dans le précipité. Nous verrons dans la suite que ce fait est corroboré par l'étude de l'entraînement en fonction de la quantité de baryte introduite.

Ce premier point établi il nous fallait déterminer les conditions opératoires qui donnent le meilleur entraînement ; en nous référant au travail de Yoshimoto [27] on remarque que cet auteur signale les variations de la fixation du glucose sur l'hydroxyde de cuivre, sous la dépendance des conditions de précipitation. Il met en relief l'*influence du temps de contact et de l'agitation*. Nos premiers essais nous ont permis de voir d'autre part que la concentration du milieu de précipitation n'est pas indifférente. Il importe donc de fixer minutieusement les conditions opératoires.

Influence de la concentration et de la dilution après précipitation.

1^{er} fait. — Pour des quantités déterminées de glucose, sulfate de cuivre et baryte et un mode opératoire déterminé, la quantité de glucose fixée par le précipité, appréciée d'après celle retrouvée dans le liquide surnageant, dépend du volume total en expérience. Plus ce volume est réduit moins on retrouve de glucose dans le filtrat.

Nous avons pu vérifier ce fait maintes fois au cours du travail et avec différents sucres. Les deux expériences suivantes effectuées avec du saccharose donnent une idée de l'influence de la concentration :

Dans deux fioles jaugées de 100 centimètres cubes on introduit respectivement et dans l'ordre en agitant entre chaque affusion :

Fiole n° 1 : Saccharose à 10 °/o . . . 6 cc.
 SO⁴Cu à 20 °/o 4 cc. 9
 Baryte N/2,2 20 cc.

Fiole n° 2 : Saccharose à 10 % . . . 6 cc.
 SO⁴Cu à 20 °/o 4 cc. 9
 H²O 69 cc. 1
 Baryte N/2,2 20 cc.

On laisse en contact vingt minutes en agitant fréquemment. Au bout de ce temps on dose le sucre dans les filtrats respectifs. On remarque un entraînement (1) de 19,4 % dans la première fiole alors que, seulement 13,7 % du sucre est précipité dans la deuxième.

1. Le pourcentage d'entraînement est établi relativement au sucre contenu dans le mélange : liquide + précipité. Il en sera de même tout au long du travail.

2° *fait.* — Une fois le précipité formé en milieu concentré, la dilution ne libère que très peu de glucose et très lentement.

Ainsi dans la fiole n° 1 de l'expérience précédente on peut après précipitation compléter le volume à 100 centimètres cubes avec de l'eau : l'entraînement ne sera pas sensiblement influencé par cette dilution.

Nous avons voulu nous rendre compte de la dissociation produite par l'eau sur un précipité formé en milieu concentré et à cet effet nous avons effectué l'expérience suivante dont les proportions sont empruntées à une expérience de Salkowski :

Dans une fiole de 100 centimètres cubes on introduit successivement en agitant :

Glucose à 7,2 %	10 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %	25 cc.
Soude normale.	44 cc.

On dose le glucose dans le filtrat d'une partie aliquote du mélange, prélevée après vingt minutes de contact : l'entraînement est total, il n'y a pas de glucose dans le filtrat.

On prélève alors 40 centimètres cubes du mélange que l'on dilue à 200 centimètres cubes avec de l'eau distillée privée de CO². On agite durant une heure par un courant d'azote et au bout de ce temps le glucose est dosé dans le filtrat. On met ensuite le flacon à la glacière (1) en l'agitant de temps en temps. On dose le glucose dans le filtrat de prélèvements, effectués à des moments différents : voici les résultats obtenus et la courbe qui leur correspond :

1. Afin d'éviter l'oxydation du glucose par le sulfate de cuivre en milieu alcalin.

Temps	Entrainement %
0	100
20'	96
1 h.	93
6 h.	91
24 h.	88
48 h.	86,3
96 h.	82

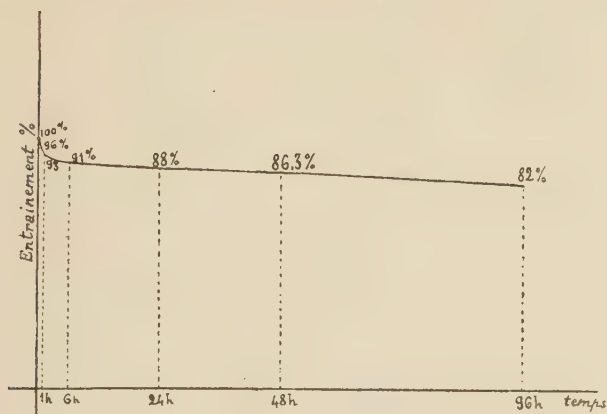


FIG. 5. — Libération du glucose par la dilution en fonction du temps.

La dilution au $1/5$ libère donc 18 % du glucose en quatre-vingt seize heures ce qui est relativement très faible.

Nous avons fait alors une précipitation en nous plaçant dans des conditions de concentration identiques à celles réalisées dans l'expérience précédente après dilution au $1/5$. Dans ces conditions l'entraînement du glucose est seulement de 34 %. C'est peut-être vers cette limite que tendrait la dissociation avec le temps. Ces différentes

expériences prouvent que le précipité est très peu dissociable par l'eau ; nous mettrons à profit plus tard cette propriété. Elle nous permettra de laver les précipités obtenus au sein des défécats urinaires et d'éliminer totalement les impuretés dissoutes dans les liquides surnageants, impuretés qu'il est impossible d'éliminer complètement par un essorage même très poussé.

Influence du mode opératoire.

3^e fait. — Pour des quantités déterminées de glucose, sulfate de cuivre et baryte, et un volume constant (donc pour une concentration constante) la quantité de glucose retrouvée dans le filtrat dépend :

- 1° De l'ordre dans lequel les réactifs sont mélangés ;
- 2° De la manière d'ajouter les réactifs ;
- 3° Du temps de contact ;
- 4° Mais par contre ne dépend pas de la température.

Mode d'affusion. — La composition d'un précipité résultant du mélange de deux solutions peut varier suivant que la première est versée dans la deuxième ou réciproquement ; l'ordre dans lequel on mélange trois solutions doit avoir une influence encore plus grande sur la nature du précipité formé.

Les quatre expériences comparatives suivantes effectuées, afin de déterminer les conditions d'affusion qui donnent le meilleur entraînement nous ont fait adopter la 4^e manière d'ajouter les réactifs. L'entraînement a été calculé d'après le glucose retrouvé dans le filtrat obtenu immédiatement après le mélange des diverses solutions.

- 1° Introduction du glucose après avoir formé le précipité.

Dans la fiole jaugée de 100 centimètres cubes on introduit :

SO^4Cu à 20 %	9 cc. 8
Baryte N/3	60 cc.

On agite pour mélanger, puis on ajoute :

Glucose à 10 %	6 cc.
H^2O q.s.p.	100 cc.

L'entraînement est de 43,4 %.

2° Introduction de la baryte en dernier lieu :

Glucose à 10 %	6 cc.
SO^4Cu à 20 %	9 cc. 8.

On mélange puis on ajoute en agitant :

Baryte N/3.	60 cc.
H^2O q.s.p.	100 cc.

L'entraînement est de 92,7 %.

3° Introduction du sulfate de cuivre en dernier lieu

Glucose à 10 %	6 cc.
Baryte N/3	60 cc.

On mélange puis on ajoute en agitant :

SO^4Cu à 20 %	9 cc. 8
H^2O q.s.p.	100 cc.

L'entraînement est de 95,1 %

4° Affusion alternative du sulfate de cuivre et de la baryte en 10 fois.

Glucose à 10 %	6 cc.
--------------------------	-------

On ajoute alternativement :

SO^4Cu à 20 %	9 cc. 8 par cc.
Baryte N/3.	60 cc. par 6 cc.
H^2O q.s.p.	100 cc.

L'entraînement est de 95,7 %.

Les 3^e et 4^e modes d'affusion sont donc les plus favorables à l'entraînement ; néanmoins pour des raisons théoriques que nous expliquerons après l'étude de l'action du temps nous emploierons le 4^e mode.

Influence du temps de contact. — Des filtrations successives faites à intervalles réguliers montrent que la réaction de fixation du glucose sur le précipité n'est pas immédiate. La majeure partie du sucre entraînable se fixe au moment même de la précipitation puis l'entraînement augmente légèrement avec le temps et atteint son maximum au bout de 1 heure environ. Un autre phénomène intervient d'ailleurs qui empêche de prolonger l'action du temps : l'oxydation du glucose en milieu alcalin par le sulfate de cuivre, même à la température relativement basse de 15°.

Un grand nombre d'expériences en fonction du temps ont été effectuées et finalement nous avons été amené à agiter le mélange durant une heure par un courant d'azote privé de CO_2 ; ainsi le liquide est bien en contact avec le précipité. Le tableau ci-dessous montre la progression de l'entraînement en fonction du temps pour l'expérience suivante :

Glucose à 10 % 6 cc.
 SO_4 à 20 % 4 cc. 9
 Baryte N/3 140 cc.

Temps	Entraînement %
0	92,7
30'	95,5
1 h. 30'	96,7
2 h.	96,7
5 h.	95,5

Influence de la température. — La température ne paraît pas avoir d'influence sur l'entraînement si ce n'est

l'action néfaste qu'elle a en facilitant l'oxydation du glucose par l'ion cuivrique en milieu alcalin. Il faut donc éviter avec soin toute élévation de température qui provoquerait l'altération du sucre étudié. Elle ne doit pas dépasser 7° pour le lévulose et 13° pour le glucose et les autres sucres réducteurs. D'autre part plus le milieu est alcalin, plus l'altération est sensible à l'action de la température.

Remarque sur la précipitation. Etat de $\text{Cu}(\text{OH})^2$.

La majeure partie du glucose qui se fixera, l'est à l'instant même où a lieu la précipitation : c'est par conséquent à ce moment-là que l'hydroxyde de cuivre a son pouvoir maximum de fixation. Il y aura donc intérêt à ce que cet hydroxyde soit très dispersé au sein du liquide au moment de sa formation de manière que le sucre uniformément réparti dans la solution soit le mieux possible en contact avec lui ; cette condition sera réalisée en pratiquant une agitation constante et en introduisant les réactifs goutte à goutte et très lentement. Une autre condition doit être observée pour qu'il y ait un bon entraînement : le glucose ne se fixe pas seul sur l'hydroxyde de cuivre, il y a également une certaine quantité d'alcali qui est entraînée avec le précipité. Or, il faut dans la plupart des cas un gros excès de baryte, une grande pression d'ions OH pour rait-on dire, pour favoriser l'entraînement ; mais lorsque le milieu est très concentré en baryte, le précipité d'hydroxyde de cuivre se forme au point même où la goutte de solution de sulfate de cuivre atteint le liquide, et comme nous le disions plus haut, il est préférable que l'hy-

droxyde soit très dispersé dans le liquide au moment de sa naissance de manière à être saturé littéralement de glucose. C'est pourquoi nous avons adopté l'affusion alternative qui réalise mieux ces conditions que les autres modes d'affusion.

Cette idée de la capacité de fixation de l'hydroxyde de cuivre naissant nous paraît être une réalité quoique nous ne l'ayons pas vérifié de très près. Chacun sait par exemple que lorsqu'on prépare de la liqueur cupro-alcaline en mélangeant les deux solutions A et B, si l'on n'a pas soin d'agiter immédiatement, on a ensuite de la difficulté à dissoudre l'hydroxyde de cuivre qui s'est formé en certains points du liquide. C'est que avec le temps l'hydroxyde s'est condensé, phénomène que l'on pourrait comparer avec la maturation des micelles; en se condensant sa surface diminue et par suite sa dissolution devient plus difficile. Il en est probablement de même en ce qui nous intéresse et si l'on ne peut pas parler de la fixation du glucose sur l'hydroxyde de cuivre en milieu alcalin comme d'un fait purement physique, l'expérience prouve que les conditions physiques de précipitation ont une grande influence sur cette fixation.

Nous donnons ci-dessous la technique de précipitation que nous avons suivie pour l'étude de chaque sucre.

Technique de précipitation pour l'étude d'un sucre.

Dans une fiole jaugée de 100cc. on introduit la solution sucrée mesurée à la pipette. Afin de se placer toujours dans les mêmes conditions de concentration au moment de la précipitation, on introduit avant les réactifs la quantité d'eau qui sera nécessaire pour compléter ultérieure-

ment à 100 cc. Puis au moyen de deux burettes de Mohr placées sur le même support et contenant, l'une la solution de sulfate de cuivre à 20 %, l'autre l'eau de baryte titrée, on introduit alternativement en 10 fois ces deux réactifs en agitant continuellement. Lorsque la température est trop élevée on l'abaisse en plongeant la fiole dans l'eau glacée. On verse ensuite le mélange dans un flacon barboteur où l'on fait passer un courant d'azote privé de CO_2 durant une heure pour agiter. Au bout de ce temps on centrifuge à grande vitesse pour séparer le liquide surnageant du précipité. Mais il arrive fréquemment que ce liquide est bleu par suite d'un phénomène que nous allons étudier en détail dans le paragraphe suivant : la « Peptisation »

Phénomène interférent : la « Peptisation »

A l'égal des acides-alcools et des polyols, les sucres proprement dits sont susceptibles dans certaines conditions de maintenir en solution l'hydroxyde de cuivre précipité par un alcali. Ce phénomène dénommé « Peptisation » par certains auteurs est d'autant plus accentué que la concentration en sucre est plus grande (1).

Comme l'indique Tollens (2), l'hydroxyde de cuivre est insoluble dans une solution neutre de dextrose, mais il devient soluble en présence d'alcali. Ce phénomène vient donc contrarier la précipitation des sucres par l'hydroxyde de cuivre, car une partie du cuivre étant solubi-

1. Il y a même des dosages colorimétriques de certains corps basés sur la solubilisation qu'ils exercent sur l'hydroxyde de cuivre en milieu alcalin. (J. SMITH [28]).

2. TOLLENS. Les hydrates de carbone, p. 54.

lisé, la quantité de cuivre actif servant à l'entraînement est ainsi diminuée. De plus ce cuivre « peptisé » présente un autre inconvénient, comme il est à l'état colloïdal il amène des perturbations dans le dosage des sucres par la méthode Lehmann : lorsqu'on veut doser dans la solution le sucre non précipité, il se libère constamment de l'iode et la réaction n'a pas de terme.

Nous avons remédié à tous ces inconvénients de la manière suivante :

Le liquide surnageant, dont on titre l'alcalinité sur un prélèvement de 10 centimètres cubes, est saturé exactement en présence de phénol phtaléine par une solution titrée d'acide sulfurique ; cette opération produit deux effets :

- 1° La baryte est éliminée sous forme de sulfate de baryte ;
- 2° L'hydroxyde de cuivre est précipité.

Mais, l'expérience a montré que l'hydroxyde ne précipitait pas seul par cette neutralisation ; il entraîne avec lui le glucose (ou tout au moins une partie) qui a servi à sa solubilisation. Il se produit ainsi une nouvelle précipitation qui peut atteindre quant au sucre fixé 20 % de la quantité initialement en expérience. Voici comment on opère : (suite de la technique de la page précédente).

Sur 10 centimètres cubes de liquide surnageant on dose l'alcalinité et le cuivre (par iodométrie). D'autre part on en prélève 50 centimètres cubes dans lesquels on met 1 goutte de phtaléine et on y verse de l'acide sulfurique (N/10, N ou à 20 % suivant l'alcalinité) jusqu'à décoloration de la phtaléine. A la neutralisation le sulfate de baryte et l'hydroxyde de cuivre sont précipités en entraînant simultanément du glucose. Au bout de quelques instants la coloration rose peut réapparaître : c'est le complexe « glucose—Cu(OH)²—Ba(OH)² » qui se décompose par manque d'alcalinité. En

effet, ainsi que nous le verrons dans la suite, il faut un excès d'alcali, une pression d'ions OH pour que le complexe se forme; lorsque une fois formé on diminue la concentration en alcali, soit par neutralisation (c'est le cas ici), soit par dilution, le complexe se décompose mais lentement, en libérant ses constituants. C'est ce qui explique la recoloration de la phthaléine. D'autre part en ajoutant l'acide sulfurique dans l'intention de neutraliser, il faut avoir soin de ne pas en mettre un excès, sinon l'hydroxyde de cuivre passe en solution et du glucose est libéré simultanément. Il convient donc d'opérer de la manière suivante pour récupérer dans cette 2^e précipitation le maximum de glucose resté en solution du fait de la peptisation de l'hydrate cuivrique: au moyen de l'acide on arrive à la première décoloration de la phthaléine: on centrifuge ou filtre immédiatement. Si le filtrat est bleu il peut se colorer en rose avec le temps, on ajoute encore de l'acide, on filtre de nouveau et ainsi de suite. Pour le glucose et la plupart des sucres cette deuxième précipitation s'effectue très bien du premier coup et ne nécessite qu'une seule neutralisation (stabilité du complexe: pour d'autres, en particulier le Mannitol il est nécessaire de neutraliser plusieurs fois avant d'avoir un liquide ne contenant plus ni cuivre ni alcali. Dans certains cas urine) il est même impossible d'éliminer tout le cuivre par ce procédé. On arrive ainsi à avoir des liqueurs absolument propres et dans lesquelles il est facile par n'importe quelle méthode de doser le sucre restant presque seul en solution.

Dans l'emploi de la méthode de Hehner pour le dosage des polyols par oxydation sulfochromique, il est évident qu'il ne faut pas ajouter de solution alcoolique de phtha-

léine pour indiquer le point de neutralisation : le changement de coloration du cuivre qui passe du bleu en milieu alcalin au vert en milieu neutre suffit pour avertir du terme de la réaction.

On conçoit donc déjà combien il est difficile d'obtenir des expériences comparatives même en s'astreignant comme nous l'avons fait à opérer dans des conditions rigoureusement déterminées.

Ces faits étant connus nous allons aborder l'étude des facteurs chimiques de la précipitation.

Influence de l'alcali (nature et quantité) sur la fixation du glucose par l'hydrate cuivrique.

Les précipités et l'entraînement sont très différents suivant que l'on utilise la soude ou la baryte, mais dans les deux cas on constate que le précipité fixe en même temps une certaine quantité d'alcali.

I. Influence de la soude. — C'est l'alcali adopté par Salkowski. L'expérience type de cet auteur était la suivante :

Il mélangeait dans l'ordre :

Glucose à 7,2 %	10 cc.
SO ⁴ Cu à 19,952 %	25 cc.
Soude normale.	44 cc.

Il introduisait la soude goutte à goutte en agitant et filtrait au bout de vingt minutes de contact.

Nous avons refait cette expérience et dans ces conditions on ne retrouve pas trace de glucose dans le filtrat.

Mais on doit remarquer d'abord que cet auteur opère en milieu très concentré; d'autre part la quantité de sulfate de cuivre utilisée pour entraîner cette quantité de glucose est environ $\frac{1}{4}$ à $\frac{1}{3}$ fois plus grande que celle que nous mettrons en œuvre avec la baryte pour obtenir un entraînement semblable;

De plus Salkowski gardant les mêmes proportions de glucose et de sulfate de cuivre a cherché à déterminer la quantité de soude donnant l'entraînement maximum, mais nous avons voulu voir ce qui se passait avec des conditions différentes de concentration et de proportion relative des réactifs.

La première série d'expériences a été effectuée avec les proportions suivantes :

Glucose à 10 %	6 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %	4 cc. 9 (1)
Soude normale	variable
H ² O q.s.p	100 cc.

Mais dans ces conditions la « peptisation » est intense et il est impossible d'obtenir un précipité en milieu alcalin, condition évidente de l'entraînement du sucre; la solubilisation de l'hydroxyde de cuivre par le sucre en milieu alcalin est totale. Dans une deuxième série d'expériences nous avons employé les proportions suivantes où nous avons diminué la quantité de glucose de manière à réduire si possible cette solubilisation ou « peptisation ».

Glucose à 10 %	1 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %	4 cc. 9
Soude normale	variable
H ² O q. s. p.	100 cc.

1. Ce chiffre de 4 cc. 9 a été choisi de telle sorte que 1 centimètre cube de solution de glucose à 10 % représentant 1 molécule de glucose, 4 cc. 9 de solution SO⁴Cu à 20 % représente proportionnellement 7 mol. de cuivre. (voire page 60).

Nous avons fait varier la soude de 6 à 30 centimètres cubes. Voici les résultats obtenus : traduits graphiquement par la courbe ci-contre :

Soude N	Entr. %	Alcali fixé en cc N. p. 100 cc.
6	0	0
7	34	0,5
7,5	78	1,5
8	60	1
9	56	1,5
10	37	1
12	32	1
15	25	1
20	12	1
30	14	1

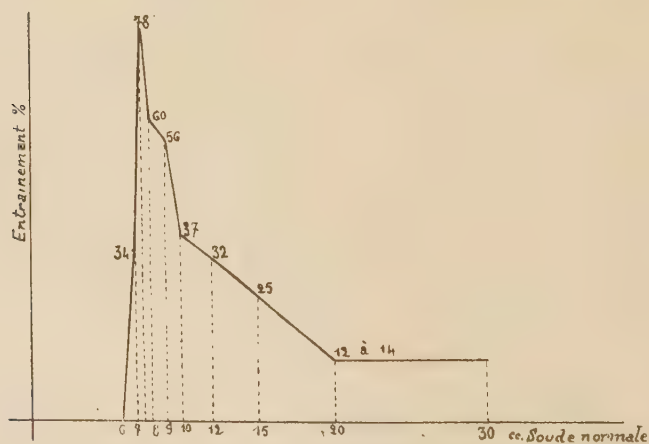


Fig. 6. — Entrainement du glucose en fonction de la soude.

De plus ces expériences prouvent encore une fois l'influence de la concentration : alors que tout le glucose est entraîné dans le milieu concentré de Salkowski, nous avons cherché vainement par l'expérience précédente un tel entraînement bien que nous ayons utilisé des proportions de glucose très réduites par rapport aux facteurs de la précipitation. Toutefois au point de vue de l'influence de la soude, la proportion que nous avons choisie pour notre expérience nous donne des résultats plus démonstratifs que celle de l'expérience de Salkowski. La précipitation n'étant jamais totale quoique restant suffisamment importante, on se rend plus facilement compte des moindres variations dans la précipitation pour des quantités très voisines d'alcali.

Un dernier point sur lequel nous aurons l'occasion de revenir est que l'alcali se fixe sur le précipité, en petite quantité mais assez régulièrement.

II. Influence de la baryte. — L'influence de la concentration en baryte a été étudiée à un double point de vue : 1° par rapport au glucose fixé; 2° par rapport à l'alcali fixé.

Influence sur le glucose fixé. — Pour des quantités déterminées de sulfate de cuivre et un volume déterminé la quantité de glucose fixé sur le précipité appréciée d'après celle retrouvée dans le filtrat dépend à la fois :

- 1° de la quantité de baryte mise en œuvre ;
- 2° de la quantité de glucose.

Donc deux phénomènes qui interfèrent : pour déterminer l'influence de chacun des facteurs, il faut faire varier l'un en maintenant l'autre fixe. Mais afin d'être complet,

il était nécessaire d'étudier l'influence de la baryte pour deux proportions différentes de glucose à cause de la peptisation qui croît en fonction de la quantité de glucose introduite. Pour cette étude nous avons appliqué la technique de la page 68 ; pour chacune des précipitations nous avons dosé dans le liquide surnageant obtenu par centrifugation :

1° l'alcali libre ce qui permet d'évaluer ensuite l'alcali fixé.

2° le cuivre peptisé afin de voir la relation existant entre la « peptisation » et l'entraînement.

3° Après avoir éliminé le cuivre comme il est indiqué à la page 70 nous avons dosé le glucose par les méthodes Lehmann ou Fontès suivant le cas.

Deux séries d'expériences en fonction de la baryte ont été effectuées; ces deux séries se différencient par la proportion de glucose.

Dans la première série, les proportions suivantes ont été adoptées :

Glucose à 10 %		3 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %		4 cc. 9
Baryte N/3,6		variable
H ² O	q. s. p.	100 cc.

Afin de se placer toujours autant que possible dans les mêmes conditions de dilution on calcule la quantité d'eau nécessaire pour compléter à 100 centimètres cubes et on l'introduit avant les réactifs.

Le tableau et la courbe ci-contre indiquent les résultats :

Baryte N/3,6 en cc.	Entrainement %	Baryte N/3,6 en cc.	Entrainement %
20	0	32	73,5
22	0	33	77,4
23	4,14	34	84,1
25	20	35	87,7
29	48,8	36	91,7
30	57,1	37	93,3
31	64	50	95,7

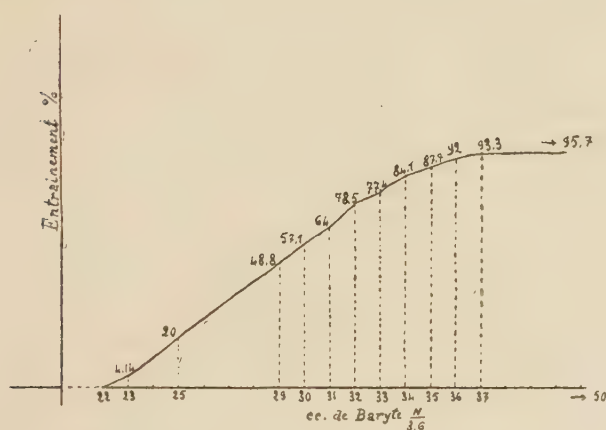


Fig. 7. — Entrainement du glucose en fonction de la baryte (1^{re} série).

Ainsi plus on introduit de baryte, plus la fixation du glucose est grande.

Ces faits sont d'ailleurs appuyés par la *deuxième série* d'expériences dans laquelle on fait également varier la concentration en baryte, mais la quantité de glucose introduite est deux fois plus grande que dans la première série ; la quantité de sulfate de cuivre et le volume final sont maintenus sans changement :

Glucose à 10 °/o 6 cc.
 SO^4Cu à 20 °/o. 4 cc. 9
 Baryte N/2,6. variable
 H^2O q. s p 100 cc.

Le tableau ci-dessous donne le pourcentage d'entraînement du glucose pour chaque quantité de baryte introduite; il indique également pour chaque cas le cuivre solubilisé, et l'alcali fixé par le précipité pour 100 centimètres cubes de liquide surnageant.

Baryte N/2,6	Entr. %	Alcali fixé en cc. N/10 p. 100 cc.	Cu solub. en cc. hypo N/10 p. 100 cc.
15 cc. 9	0	0	0
22	33	4 cc. 1	3
25	46	6,5	2,5
28	58	14,7	2
33	60	18,4	1,5
45	66	28,5	2
70	75	38,7	2

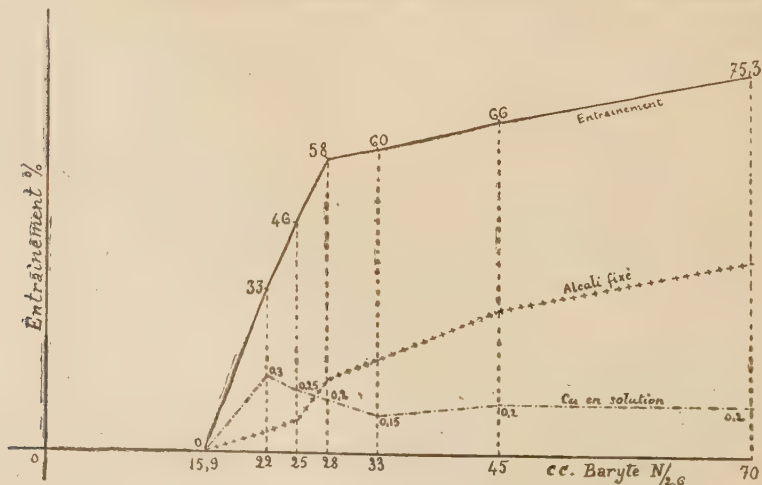


FIG. 8. — Entraînement du glucose en fonction de la baryte.
 Alcali fixé et cuivre peptisé (2^e série).

Influence de la baryte sur l'alcali fixé. — Nous avons parlé à diverses reprises de l'alcali fixé par le précipité et il convient de le définir ici plus nettement :

Lorsqu'on mélange une solution de sulfate de cuivre et de l'eau de baryte en excès, il se forme un précipité composé de sulfate de baryte et d'hydroxyde de cuivre ; le filtrat possède encore une certaine alcalinité : soit a cette alcalinité. Si l'on forme le même précipité en présence de glucose le filtrat est moins alcalin que dans le premier cas : soit a' son alcalinité dans ce 2^e cas :

$a' - a$ représente l'alcali fixé.

Le glucose se fixe donc sur l'hydroxyde de cuivre en même temps qu'une certaine quantité d'alcali se trouve entraînée, de sorte que le précipité est un complexe formé de :

glucose — hydroxyde de cuivre — baryte.

Cette étude révèle deux faits principaux :

1^{er} fait. — La quantité d'alcali fixée par le précipité croît proportionnellement à la quantité de sucre fixé et par conséquent dépend des facteurs qui ont une influence sur cette fixation que nous avons étudiés au paragraphe précédent (1) c'est-à-dire ;

a) de la concentration en baryte pour des quantités déterminées de glucose et de sulfate de cuivre.

b) de la concentration en sucre pour des quantités déterminées de baryte et de sulfate de cuivre.

Les expériences établissant ces faits ont été effectuées avec les proportions suivantes (2) :

1. Voir page 75.

2. Voir aussi les expériences de la page 101.

Glucose à 10 % variable
 SO_4Cu à 20 °/o 4 cc. 9
 Baryte N/2,85 30 cc.
 H_2O q. s. p. 100 cc.

Les chiffres du tableau représentent les quantités pour 100 centimètres cubes de mélange.

Glucose intr. en gr.	Glucose rest. en gr.	Glucose entr. en gr.	Alc. fixé en cc. N/10	Entrt. %
0				
0,02	0,00143	0,01857	4	92,8
0,05	0,0018	0,0482	5	96,4
0,1	0,00152	0,09848	8,5	98,5
0,15	0,00147	0,14853	10,5	99
0,2	0,00266	0,19734	13	98,7
0,25	0,00543	0,24457	14,5	97,8
0,30	0,01308	0,28692		95,7

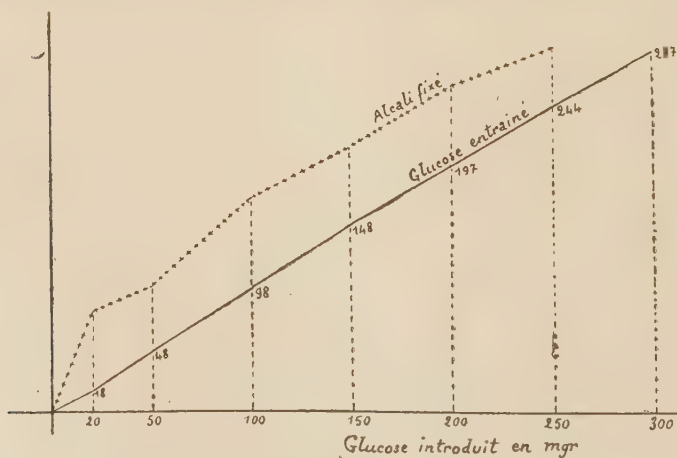


FIG. 9. — Courbe montrant la relation entre le glucose entraîné et l'alcali fixé.

2^e fait. — Mais si après avoir ajouté une quantité de baryte telle que l'entraînement du sucre soit maximum, on continue d'ajouter de la baryte, la quantité de baryte fixée par le précipité augmente et devient par conséquent indépendante du sucre entraîné.

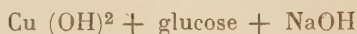
Voici une expérience avec le stachyose particulièrement démonstrative de ce 2^e fait.

a) Stachyose à 10 %	6 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %	4 cc. 9
Baryte N/2	20 cc.
H ² O q. s. p.	100 cc
Entraînement	98,7 %
Stachyose entraîné	592 mgr.
Alcali fixé	1 cc. N/2
b) Stachyose à 10 %	6 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %	4 cc. 9
Baryte $\frac{N}{2}$	60 cc.
H ² O q. s. p.	100 cc.
Entraînement	98,3 %
Stachyose entraîné	590 mgr.
Alcali fixé	9 cc. 6 N/2.

Des remarques semblables faites au moment de l'étude particulière de plusieurs sucres semblent bien établir que la proportionnalité entre le sucre entraîné et l'alcali fixé (la quantité de sucre introduit étant variable) n'existe que pour la même concentration en alcali.

De même il n'y a proportionnalité entre la baryte fixée et la concentration en baryte que lorsque l'entraînement du sucre est voisin du maximum.

Comparaison des influences respectives de la soude et de la baryte sur l'entraînement du glucose. — La fixation du glucose sur le précipité d'hydroxyde de cuivre n'est pas la même suivant que l'on emploie la soude ou la baryte. Les expériences respectives d'entraînement du glucose au moyen de ces deux alcalis nous l'ont montré. Ceci amène à envisager la composition chimique des précipités obtenus dans les deux cas. Avec la soude le précipité est formé de :



Avec la baryte, le sulfate de baryte provenant de l'action de cet alcali sur l'ion SO^4 du sel cuivrique s'ajoute au précipité :



On pourrait se demander si ce n'est pas à la formation simultanée de sulfate de baryte qu'il faut attribuer la meilleure fixation du glucose en présence de baryte. Des expériences comparatives faites en employant le nitrate de cuivre et le sulfate de cuivre ont donné des liquides sur-nageants contenant sensiblement la même quantité de glucose. Ceci tend à prouver que le sulfate de baryte n'a aucune influence sur l'entraînement.

Voici les expériences réalisées en employant la technique déjà décrite :

α) Glucose à 10 %	6 cc.
SO^4Cu à 20 %	4 cc. 9
Baryte N/2, 8	84 cc.
H_2O q. s. p	100 cc.
Glucose restant	162 mgr.
Entraînement	73 %

a') Glucose à 10 °/o	6 cc.
(NO ³) ² Cu à 20 °/o.	4 cc. 9
Baryte N/2, 8	84 cc.
H ² O q. s. p.	100 cc.
Glucose restant	107 mgr.
Entraînement	82 °/o
b) Glucose à 10 °/o	3 cc
SO ⁴ Cu à 20 °/o.	4 cc. 9
Baryte N/2, 8	84 cc.
H ² O q. s. p.	100 cc
Glucose restant.	5 mgr.
Entraînement	98 °/o
b') Glucose à 10 °/o	3 cc.
(NO ³) ² Cu à 20 °/o	4 cc. 9
Baryte N/2,8	84 cc.
H ² O q. s. p.	100 cc.
Glucose restant	12 mgr.
Entraînement	96 °/o

C'est donc bien au caractère propre des ions Na et Ba qu'il faut attribuer leur différence d'action.

Nous avons vu que l'on entraîne seulement une faible proportion de glucose lorsqu'on emploie la soude dans un milieu un peu dilué. Le grand excès de soude diminue encore l'entraînement parce que la peptisation devient intense. Si dans un mélange réalisant ces conditions, on ajoute des ions Ba sous forme Ba (OH)² ou Cl²Ba en quantité au moins aussi grande que les ions Na en solution, on provoque l'annulation de la peptisation et la fixation du glucose devient normale comme si l'on employait de la baryte. Plusieurs expériences très démonstratives ont été effectuées dans ces conditions.

Influence de la concentration en glucose sur sa fixation.

Cette étude a pour but de faire connaître combien une quantité déterminée de sulfate de cuivre peut fixer au maximum de glucose lorsqu'on se place dans les conditions les plus favorables d'alcalinité.

Les conditions les plus favorables d'alcalinité, ainsi que nous l'avons vu, sont réalisées par la concentration maximum en baryte; la solubilité de cet alcali limite seule ces conditions. Néanmoins en ayant une eau de Baryte très concentrée (N/2,8) (1) que nous conservions à l'étuve à 30° nous avons pu étendre légèrement le champ de l'expérience. Comme dans la précipitation, il faut éviter toute élévation trop marquée de température, à cause de la réduction possible du sulfate cuivrique en milieu alcalin, la fiole d'expérience était refroidie en la plongeant dans l'eau glacée au moment de la précipitation comme durant l'agitation.

Trois séries d'expériences traduites par les trois courbes ci-dessous indiquent la quantité de glucose entraînée, lorsqu'on introduit dans la fiole d'expérience des quantités variables de ce sucre, les autres facteurs restant constants.

1. A l'étuve à 45-50° on arrive à conserver sans cristallisation une eau de Baryte env. N soit à 15 %.

Proportions utilisées :

Courbe supérieure	{	Glucose à 10 %	variable
		SO ⁴ Cu à 20 %	9 cc. 8
		Baryte N/2,8	84 cc.
		H ² O q. s. p.	100 cc.

Courbe moyenne	{	Glucose à 10 %	variable
		SO ⁴ Cu à 20 %	4 cc. 9
		Baryte N/2,8	84 cc.
		H ² O q. s. p.	100 cc.

Courbe inférieure	{	Glucose à 10 %	variable
		SO ⁴ Cu à 20 %	2 cc. 45
		Baryte N/2,8	84 cc.
		H ² O q. s. p.	100 cc.

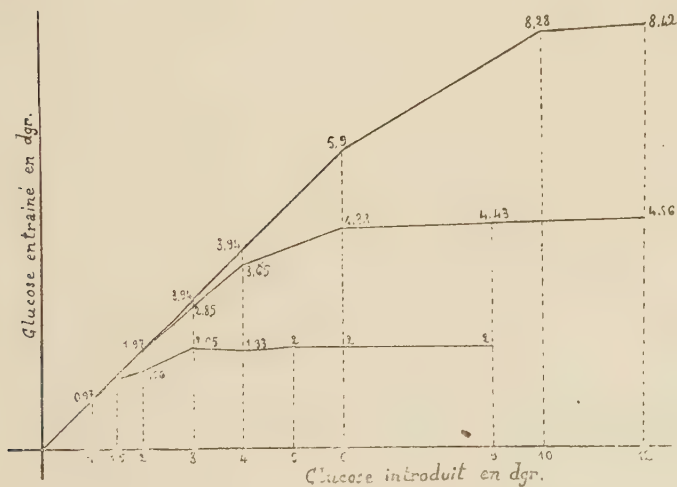


FIG. 10. — Entrainement du glucose en fonction de la concentration en glucose.

Le tableau suivant donne le pourcentage d'entraînement pour chaque expérience.

Courbe supérieure		Courbe moyenne		Courbe inférieure	
Gluc. à 10 %	Entr. %	Gluc. à 10 %	Entr. %	Gluc. à 10 %	Entr. %
1 cc.	97 %	0 cc 2	93 %	1 cc.	97
2	98,5	0,5	96,5	1,5	92,2
3	98,5	1	98,5	2	83
4	98,5	1,5	99	3	68,5
6	98,5	2	98,7	4	48,2
10	83	2,5	97,8	6	33,6
12	70	3	95	9	23,6
24	38,1	4	91,2		
		6	73		
		9	49,3		
		12	38		

Conclusion de ces expériences.— Les trois courbes obtenues en portant en abscisses les quantités de glucose introduites et en ordonnées, les quantités fixées par le précipité, correspondent chacune à une série d'expériences. Ces courbes ont la même allure et sont dans un rapport stœchiométrique.

Ainsi une quantité déterminée de sulfate de cuivre fixe toujours la même quantité de glucose lorsque les conditions les plus favorables à l'entraînement sont réalisées. On peut même dire que, dans ces conditions, le glucose fixé est linéairement proportionnel au sulfate de cuivre mis en œuvre.

Calcul du rapport maximum de fixation $\frac{\text{glucose}}{\text{cuivre}}$.

On peut envisager ce rapport à un double point de vue :

1^o Quel est le *poids maximum de glucose* susceptible d'être fixé par un *poids déterminé de cuivre* ?

2^o Combien une *molécule de cuivre* peut-elle fixer au *maximum de molécules de glucose* ?

La détermination de ces deux rapports se fera d'après le chiffre indiqué par le point culminant de l'une des trois courbes. Ainsi dans la courbe moyenne on voit que la quantité maximum de glucose fixé par 4cc.9 SO^4Cu à 20 % est 456 milligrammes.

$$\text{Rapport max. } \frac{\text{p. cuivre (en SO}^4\text{Cu)}}{\text{p. glucose}} = \frac{456 \text{ mgr.}}{980 \text{ mgr.}}$$

ou 1 gramme de sulfate de cuivre (crist.) peut fixer au max. : 466 milligrammes de glucose.

Rapport max. $\frac{\text{mol. glucose}}{\text{mol. cuivre}}$. Nous avons vu page 73 que

$$\frac{100 \text{ mgr. glucose}}{4 \text{ cc.9 SO}^4\text{Cu à 20 \%}} = \frac{1 \text{ mol. glucose}}{7 \text{ mol. Cu}}. \text{ Donc 7 mol. Cu fixe 4 mol. 56 glucose et 1 mol. Cu fixe 0 mol. 65 glucose.}$$

(Proportions de Salkowski : 1 mol. glucose + 5 mol. SO^4Cu + 11 mol. NaOH).

Glucose demeurant dans le liquide surnageant pour les faibles concentrations en glucose.

Le tableau de la page 80 et la courbe correspondante montrent que lorsqu'on essaye d'entraîner de faibles quantités de glucose, au-dessous de 150 milligrammes dans l'expérience normale :

Glucose variable
 SO^4Cu à 20 % 4 cc.9
 Baryte en excès
 H_2O q. s. p. 100 cc.

il reste toujours en solution la même quantité de glucose : environ 15 à 18 milligrammes. A quoi peut-on attribuer ce fait et pourquoi l'entraînement n'est-il pas total ? On pourrait envisager la solubilité du complexe considéré comme combinaison chimique (cuproglucosate de baryum) ou tout au moins comme composé d'adsorption très stable. Sa solubilité exprimée en glucose serait donc voisine de 0,015 ‰.

Régénération du glucose du précipité. Bilan.

Afin de simplifier les manipulations, le pourcentage d'entraînement a été établi, au cours du travail, d'après le glucose dosé dans le liquide surnageant. Néanmoins afin de prouver la réalité de l'entraînement, il était nécessaire de le doser dans le précipité et d'établir ainsi un bilan ; de nombreuses expériences effectuées à cette intention nous ont permis de voir, que l'on ne perdait pas sensiblement de glucose.

Régénération du glucose. — Le précipité est obtenu essoré sous forme de culot de centrifugation. On le traite alors par l'acide sulfurique normal (en quantité équivalente à $\text{Cu}(\text{OH})^2 - \text{Ba}(\text{OH})^2$ du précipité) de manière à dissoudre l'hydroxyde de cuivre. Le glucose est libéré et la baryte passe à l'état de sulfate de baryte. Par filtration ou centrifugation on obtient une solution de sulfate de cuivre contenant le sucre. On peut la traiter de deux manières différentes pour éliminer le sulfate de cuivre.

1° Par les carbonates alcalino-terreux (CO_3Ba ou CO_3Ca) (1).

1. En solution le sulfate de cuivre est légèrement hydrolysé suivant la réaction réversible : $\text{SO}_4\text{Cu} + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{SO}_4\text{H}^2 + \text{Cu}(\text{OH})_2$. Si l'on intro-

On introduit dans la solution une quantité de carbonate à peu près équivalente aux ions SO_4 en solution et on agite par un courant d'air durant 15 à 30 minutes. On s'assure de l'entière précipitation du cuivre par la réaction au ferrocyanure effectuée sur des prélèvements successifs. On filtre et dose le glucose dans le filtrat.

2° On peut éliminer Cu par H_2S , chasser H_2S par un courant d'air et neutraliser SO_4H^2 formé par la baryte ou un carbonate alcalino-terreux.

Conclusions de l'étude du glucose.

La fixation du glucose par l'hydroxyde de cuivre en milieu alcalin dépend essentiellement de deux sortes de conditions :

1° Des conditions physiques de précipitation : concentration globale, mode d'affusion, temps de contact, etc.

2° Des conditions chimiques : alcalinité, proportions relatives de glucose et de sulfate de cuivre.

De plus le glucose ne se fixe pas seul sur le précipité d'hydroxyde de cuivre, il y a en même temps fixation d'une certaine quantité de baryte : dans la plupart des cas la quantité d'alcali fixée est d'abord proportionnelle à la quantité de sucre ; mais lorsque la quantité de glucose fixée est maximum de nouvelles additions de baryte augmentent la quantité d'alcali fixée.

D'autre part la précipitation du glucose est gênée par la solubilisation qu'exerce ce sucre sur l'hydroxyde de

duit dans une solution de sulfate cuivrique du carbonate de chaux, ¹ neutralise l'acide sulfurique au fur et à mesure de sa libération. Si l'on agite et favorise par un courant d'air le départ du CO_2 formé : $\text{SO}_4\text{H}^2 + \text{CO}_3\text{Ca} = \text{SO}_4\text{Ca} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$, tout le cuivre est rapidement précipité.

cuivre en milieu alcalin, c'est-à-dire la « peptisation ». On peut éluder les inconvénients de ce phénomène soit en augmentant la concentration en baryte, soit en faisant dans les liquides surnageants une deuxième précipitation par neutralisation exacte. Enfin à l'aide d'une technique que nous avons donnée en détail on peut régénérer le glucose du précipité et l'expérience prouve que le sucre ne subit aucune modification chimique au cours des manipulations.

CHAPITRE II

LÉVULOSE ET SACCHAROSE

La fixation de la plupart des sucres sur l'hydroxyde de cuivre en milieu alcalin est analogue à celle du glucose ; seuls le lévulose et le saccharose présentent en ce qui concerne la peptisation du cuivre en milieu alcalin, des phénomènes assez particuliers : c'est pourquoi nous les avons groupés dans un même chapitre. Néanmoins les entraînements respectifs de ces deux sucres sont assez différents pour nous obliger à les étudier séparément.

Etude du Lévulose.

Le phénomène le plus frappant qui apparaît lorsqu'on pratique un essai d'entraînement du lévulose, par le sulfate de cuivre et la baryte au moyen de proportions déjà utilisées avec le glucose, c'est la « peptisation » intense : le liquide surnageant est fortement coloré en bleu. L'hydroxyde de cuivre en milieu alcalin apparaît ainsi comme plus soluble dans les solutions de lévulose que dans celles de glucose. D'autre part le lévulose est très oxydable et son altération en solution alcaline en présence d'ions cuivriques est très rapide vers 15°. Aussi est-il rigoureusement indispensable de placer la fiole d'expérience dans

la glace durant toute la manipulation. Nous avons déterminé pour ce sucre ;

1° L'influence de la concentration en baryte et la quantité de baryte donnant l'entraînement maximum, en faisant varier la concentration de cet alcali par rapport aux autres facteurs de la réaction maintenus constants (c'est-à-dire cuivre et lévulose).

2° L'influence de la concentration en lévulose, et le poids maximum qu'une quantité déterminée de sulfate de cuivre est capable de fixer lorsqu'on réalise les conditions d'alcalinité les plus favorables à l'entraînement.

1° Influence de la baryte. — Après différents essais les proportions suivantes ont été adoptées pour cette étude :

Lévulose à 10 %.		6 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %.		4 cc. 9
Baryte N/2,8.		variable
H ² O q. s. p.		100 cc.

Comme précédemment, c'est d'après le sucre retrouvé dans le liquide surnageant que l'on évalue le pourcentage d'entraînement. Mais nous avons été amenés à effectuer deux séries d'expériences :

Dans la *première série* nous avons opéré exactement comme pour le glucose, sans nous préoccuper de la « Peptisation » plus ou moins marquée du liquide surnageant ; autrement dit nous dosions le sucre total du liquide surnageant en l'acidifiant nettement au préalable de manière à dissoudre à l'état de sulfate de cuivre l'hydroxyde de cuivre peptisé et libérer ainsi le sucre.

Mais nous avons été frappé d'une part, comme nous le disions plus haut, par la « peptisation » intense et d'autre part par l'irrégularité de la courbe d'entraînement en fonction de la baryte donnée par cette première série d'expériences; l'étude de la peptisation faite précédemment (1) nous a montré que l'hydroxyde de cuivre n'est solubilisé que grâce à la présence simultanée du sucre et de l'alcali : si l'on neutralise exactement à la phtaléine, l'hydroxyde de cuivre précipite en entraînant du sucre. Nous avons pensé appliquer cette observation aux liquides surnageants provenant de la précipitation du lévulose, dans l'espoir d'améliorer son entraînement et de rendre sa fixation en fonction de la baryte plus régulière. C'est pourquoi nous avons fait une *deuxième série* d'expériences parallèle à la première mais en différant par le point suivant :

Avant de doser le sucre total du liquide surnageant, nous avons eu soin de neutraliser le liquide bleu et alcalin obtenu après centrifugation et de séparer le nouveau précipité qui se forme dans ces conditions en entraînant du lévulose : c'est donc seulement le sucre restant en solution après cette deuxième précipitation que nous avons dosé.

Dans le tableau suivant nous donnons comparativement les résultats obtenus dans ces deux séries d'expériences; nous y ajoutons la quantité de cuivre « peptisé » et l'alcali fixé par le précipité à chaque expérience :

1. Voir page 69.

Baryte N/2,8	Entr. % 1 ^{re} série	Entr. % 2 ^e série	Cu en sol. en cc. hypo N/10 p. 100 cc.	Alcali fixé en cc. N/10 p. 100 cc.
15		0	3,5	0
17		4	1	0
20		22	5,5	0
25		36	12	4,7
27,4		43,7	12	11,1
30	46,3 %	31	18	11,2
31		21	22,5	9,8
32		21	25	10,3
33		21	26	10,7
35		21	26	12,8
36	55	»	»	»
37		30	23	16
40		36	19	21,3
45		46	18	31
50	68	51,3	11,5	32,4
70	77	67,8	8	46,6
90	79	76,5	5,5	70

Enfin les différentes courbes ci-dessous, expressions graphiques des résultats du tableau montrent :

1° Les variations de l'entraînement dans les deux séries d'expériences et comment l'irrégularité de la fixation dans la première série est corrigée dans la deuxième.

2° La variation de la « peptisation » dont la courbe est inverse de celle de l'entraînement.

3° La variation de l'alcali fixé qui croît sensiblement en même temps que l'entraînement (la courbe de l'alcali fixé doit être comparée à la courbe d'entraînement de la première série d'expériences).

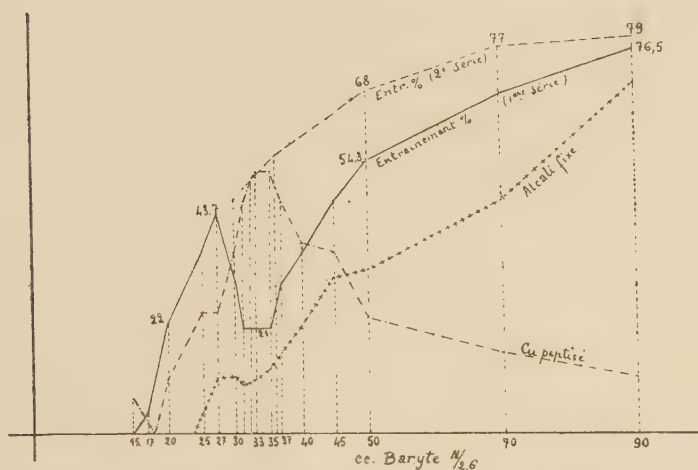


FIG. 11. — Entraînement du lévulose en fonction de la baryte (1^{re} et 2^e série). Alkali fixé. Cuivre peptisé.

Remarques sur la peptisation du cuivre par le lévulose. —

La « peptisation » amène dans la réaction de fixation du lévulose sur l'hydroxyde de cuivre des perturbations remarquables.

Il est des proportions pour lesquelles ce phénomène est particulièrement intense ; le liquide surnageant obtenu dans ce cas-là est très trouble et présente l'aspect d'une solution colloïdale.

De cette étude il ressort qu'il y a deux manières d'éviter la « peptisation » ou plus exactement son action sur l'entraînement :

1^o En augmentant la concentration en baryte.

2^o En provoquant une précipitation du complexe peptisé par neutralisation de la solution colloïdale bleu foncé.

Néanmoins la baryte agit encore ici nettement par sa masse, comme pour le glucose : la fixation est d'autant plus importante que la concentration en baryte est plus grande.

2^o **Influence de la concentration en lévulose.** *Détermination du rapport maximum de fixation* $\frac{\text{lévulose}}{\text{cuivre}}$.

Pour cette détermination nous avons utilisé les proportions suivantes :

Lévulose à 10% variable
 SO_4Cu à 20% 4 cc. 9
 Baryte N/2,2 80 cc
 H_2O q. s. p. 100 cc.

La technique habituelle de précipitation a été appliquée et le lévulose a été dosé dans le liquide surnageant après l'avoir neutralisé exactement et en avoir séparé le précipité ainsi formé.

Le tableau et la courbe ci-dessous montrent qu'en fixe au maximum 474 milligrammes de lévulose sur 980 milligrammes de sulfate de cuivre.

Lévulose intr. en mgr.	Lévulose entr.	Entr. %
100	89	89
300	290	96,4
500	460	90,7
600	474	79
700	470	66
900	216	24
1200	123	10,2

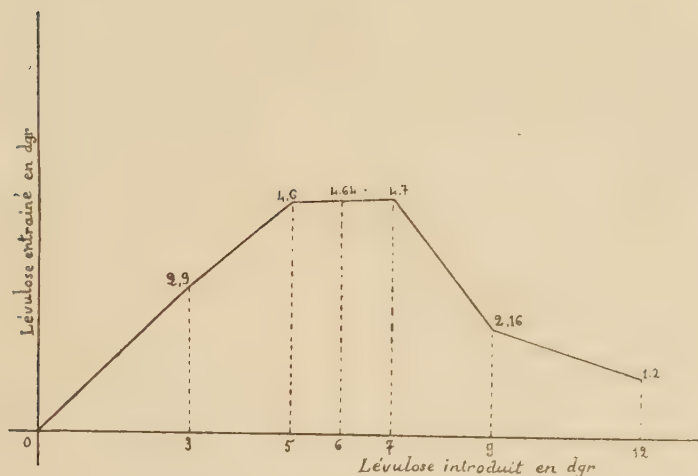


FIG. 12. — Entrainement du lévulose en fonction de la concentration en lévulose.

1 gramme de sulfate de cuivre peut fixer au maximum 484 milligrammes de lévulose.

1 molécule de cuivre correspond à 0 mol. 667 de lévulose.

Etude du saccharose.

Comme le lévulose, le saccharose a fait l'objet d'une étude plus approfondie que la plupart des autres sucres, par suite de sa conduite singulière au cours de la réaction de Salkowski. Il est très difficilement entraînable par le sulfate de cuivre et la baryte et corrélativement il produit une « peptisation » intense.

Influence de la concentration en baryte. — D'une façon générale on peut dire que la fixation du saccharose sur l'hydroxyde de cuivre est maximum lorsque le liquide

surnageant contient peu de baryte en excès. L'excès de baryte favorise la « peptisation » à tel point que le cuivre reste totalement en solution et par conséquent le saccharose n'est plus entraîné.

La première série d'expériences pour étudier l'influence de la baryte est basée sur les proportions suivantes :

Saccharose à 10 °/o 6 cc.
 SO^4Cu à 20 °/o. 4 cc.9
 Baryte N/2,2 variable
 H^2O q.s.p. 100 cc.

Les résultats de ces expériences sont exposés dans le tableau ci-dessous et la courbe ci-contre les traduit graphiquement.

Baryte N/2,2	Entr. %	Cu en sol. en cc, hypo N/10 p. 100 cc.
16	5,4	0
17,5	11,6	0,5
19	13	14
20	13,7	11,5
21	13	15
25	6,7	21
30	0	28

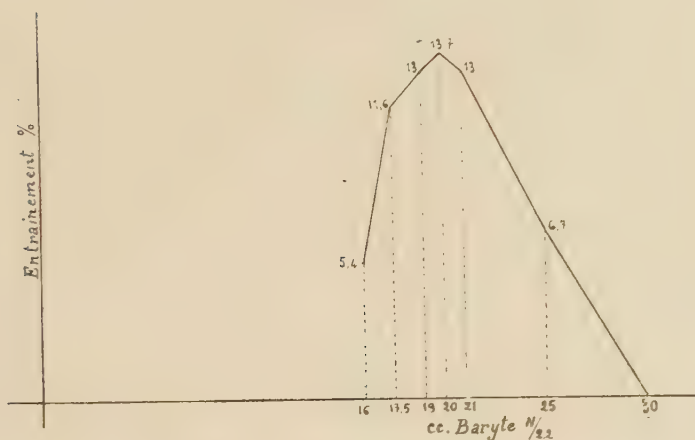


FIG. 13. — Entrainement du saccharose en fonction de la baryte
(1^{re} Série)

Les résultats ci-dessus ne sont valables que pour la concentration en saccharose indiquée car l'influence de la baryte est variable suivant la proportion de sucre mis en œuvre. Devant ce fait nous nous sommes attachés à déterminer les conditions d'obtention d'un entrainement voisin de 100 % : nous avons pensé atteindre ce but en diminuant la quantité de saccharose par rapport aux autres facteurs. Si les résultats n'ont pas atteint nos espérances, nous avons pu tout au moins obtenir des pourcentages d'entrainement bien supérieurs à ceux du tableau ci-dessus; d'autre part cela nous a permis d'étudier l'influence de la baryte pour des proportions différentes :

Saccharose à 10 %		1 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %		4 cc.9
Baryte N/4.9		variable
H ² O q.s p.		100 cc.

Voici les résultats obtenus :

Baryte N/1,9	Entr. %	Alcali fixé en cc. N/10 p. 100 cc.
13	0	0
13,5	19	2,5
14	25	5
14,5	28	7,5
15	39	10
15,5	52	12,5
16	51	15
30	52	55

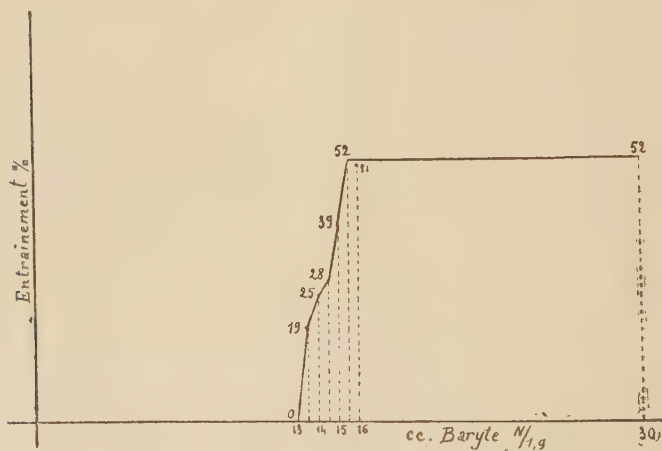


FIG. 14. — Entrainement du saccharose en fonction de la baryte
(2^e Série)

Ainsi la fixation du saccharose croît très rapidement au fur et à mesure qu'augmente l'alcali. On pourrait même dire que entre 13 centimètres cubes et 15 cc.5 la fixation du sucre est sensiblement proportionnelle à celle

de la baryte. Mais remarquons que, ainsi que nous le prévoyions, la « peptisation » est faible pour cette proportion de sucre et de ce fait l'excès de baryte n'a aucune influence néfaste sur l'entraînement.

Nous voyons d'autre part que, dans le cas du saccharose, il est difficile d'indiquer un taux de baryte donnant l'entraînement optimum, ce taux variant avec la concentration en sucre. Néanmoins on peut arriver à calculer approximativement la quantité de baryte minimum nécessaire pour obtenir l'entraînement optimum à chaque concentration en sucre. La relation qui permet ce calcul est basée sur l'alcali fixé :

On connaît la quantité de baryte nécessaire pour précipiter l'hydroxyde du sulfate de cuivre mis en œuvre :

soit A cc. $\frac{N}{10}$ cette quantité ; or nous voyons dans le tableau ci-dessus que le meilleur entraînement, soit 52 %, correspond à 12 cc. 5 $\frac{N}{10}$ d'alcali fixé (1)(quantité minimum).

Donc pour 52 milligrammes de saccharose fixé par le cuivre il y a en même temps 12 cc. 5 de baryte $\frac{N}{10}$. En généralisant ce résultat on peut calculer approximativement la quantité de baryte nécessaire pour obtenir le meilleur entraînement d'une quantité quelconque *p* de saccharose en utilisant la relation :

$$\text{Baryte (en cc. } \frac{N}{10} \text{)} = A \text{ cc. } \frac{N}{10} + \frac{p \text{ (en mgr.)} \times 12.5}{52}$$

1. Nous voyons ainsi que pour le même entraînement 52 %, la quantité d'alcali peut être de 12 cc.5, 15 centimètres cubes ou 55 centimètres cubes; ceci vient à l'appui de ce que nous avons vu à propos du glucose : indépendamment du sucre fixé, la quantité d'alcali fixée croît proportionnellement à la concentration en baryte (voir page 79).

Il est évident que ce moyen de procéder ne donne qu'une indication très approximative, mais néanmoins il réduit de beaucoup les tâtonnements dans le cas du saccharose pour la recherche du taux de baryte optimum : son usage nous a permis de restreindre le nombre des expériences pour la détermination de l'influence de la concentration en sucre.

Détermination du rapport maximum de fixation saccharose cuivre. — Ce rapport a été calculé d'après la quantité de saccharose la plus importante qu'il a été possible de fixer au cours des expériences en fonction de la concentration en saccharose.

Le tableau suivant montre les résultats : (obtenus avec 4 cc. 9 SO^4Cu à 20 % et Baryte optimum).

Sacch. intr. en mgr.	Sacch. entr. en mgr.
50	37
100	52
200	56
300	96
600	127
900	163

Donc 980 milligrammes de sulfate de cuivre fixe au maximum 163 milligrammes de saccharose 1 gramme de SO^4Cu fixe au maximum 166 milligrammes de saccharose. 1 molécule de cuivre correspond donc à 0 mol. 116 de saccharose.

CHAPITRE III

AUTRES SUCRES

Les autres sucres étudiés comprennent deux monoses : le *Galactose* et l'*Arabinose*, deux bioses réducteurs : le *Lactose* et le *Maltose*, enfin un triose : le *Raffinose* (1) et un tétrorse le *Stachyose* (1).

Avant d'utiliser ces différents sucres nous nous sommes assurés de leur pureté en prenant le pouvoir rotatoire de leur solution à 10 %.

Leur entraînement par le sulfate de cuivre et la baryte est analogue à celui du glucose et aucun phénomène singulier ne vient troubler leur fixation sur le précipité. D'une manière générale on peut dire que l'entraînement de ces six sucres croît proportionnellement à la concentration en baryte.

La quantité maximum qu'une quantité déterminée de cuivre est susceptible de fixer, dans les meilleures conditions d'alcalinité varie selon le sucre étudié. Comme toujours ce chiffre a été déterminé par l'étude de l'influence de la concentration en sucre en utilisant la quantité de baryte optimum évaluée elle-même par l'étude de la concentration en baryte.

La technique de précipitation établie pour le glucose (2)

1. Ces deux sucres nous ont été donnés par MM. les Professeurs Bridel et Hérissé et nous les en remercions bien vivement.

2. Voir page 68.

a été appliquée à l'étude de ces sucres et c'est toujours d'après le sucre retrouvé dans le liquide surnageant que l'on a calculé le pourcentage d'entraînement.

Influence de la concentration en baryte.

Nous avons utilisé les proportions habituelles pour cette détermination :

Sucre à 10 %	6 cc.
SO ⁴ Cu à 20 ^o /o	4 cc. 9
Baryte $\frac{N}{1,9}$	variabl.
H ² O q.s p.	100 cc.

Le tableau suivant groupe les résultats obtenus avec les différents sucres.

	Baryte N/1,9 introduite :								Entrainement
	15 cc.	20 cc.	30 cc.	40 cc.	50 cc.	60 cc.	70 cc.	80 cc.	
Galactose .		66 %		84 %					
Arabinose		54,4 %			88,7 %			98,4 %	
Lactose. .	16,7		97,8				91,7		
Maltose. .		55		97					
Raffinose .		97,3				98			
Stachyose		98,7				98,3			

Ce tableau montre pour ces sucres :

1^o Que le grand excès de baryte ne gêne pas la fixation, sauf peut-être pour le lactose; pour la plupart cet excès est même nécessaire pour assurer un bon entraînement.

2^o Que l'entraînement est pratiquement total sauf pour

le galactose dont on peut cependant espérer augmenter l'entraînement par un excès de baryte encore plus grand.

Influence de la concentration en sucre.

Détermination du rapport maximum de fixation.

Partant de cette donnée nous avons fait varier la concentration en sucre de manière à connaître combien une quantité déterminée de cuivre est capable de fixer de sucre au maximum. Pour cela nous avons utilisé les proportions suivantes :

Sucre à 10 % variable

SO⁴Cu à 20.0 % 4 cc. 9

Baryte $\frac{N}{4.9}$ 80 cc.

H²O q.s.p. 100 cc.

Les résultats de ces expériences sont exprimés dans le tableau suivant :

	Sucre introduit en mgr.						
	100	300	600	900	1200	1500	2400
Galactose .		293	504	555	543		
Arabinose .			590		642		
Lactose. . .	70		587	818		837	952
Maltose. . .			582	814		1087	
Raffinose . .			584		581	860	
Stachyose . .			592		1121	1312	

Sucre entraîné en mgr.

Les chiffres de ce tableau nous permettent de calculer combien 1 gramme de sulfate de cuivre est susceptible

de fixer de sucre au maximum ou combien 1 molécule de cuivre peut fixer de molécules de sucre. Les résultats sont exposés dans le tableau ci-dessous :

	Poids de sucre en mgr. que peut fixer 1 gr. SO_4Cu	Nombre de molécules de sucre que peut fixer 1 mol. Cu
Galactose	566	0,81
Arabinose. . . .	655	1,1
Lactose.	971	0,68
Maltose.	1110	0,8
Raffinose	886	0,41
Stachyose	1338	0,63

Il faut bien remarquer que ces chiffres doivent être interprétés avec précaution. En effet si pour le galactose, l'arabinose et le lactose on peut dire que, pratiquement, la fixation n'augmente pas avec la concentration en sucre, il n'en est plus de même pour le maltose, le raffinose et le stachyose ; pour ces deux derniers il est certain que le maximum n'est pas atteint, donc les chiffres indiqués sont trop faibles. De plus dans chacune des expériences effectuées nous dosions dans le liquide surnageant : 1° *l'alcali resté libre* ce qui nous a permis de calculer l'alcali fixé ; 2° *le cuivre peptisé*, dosage qui montre que la solubilisation exercée sur l'hydroxyde de cuivre en milieu alcalin par ces sucres est minime sauf pour le raffinose ; ce fait concorde avec leur excellente précipitation.

CHAPITRE IV

POLYOLS

Nous avons voulu, en étudiant la précipitation des polyols par l'hydroxyde de cuivre en milieu alcalin, voir comment réagissaient dans ce cas ces hydrates de carbone si voisins des sucres par leur constitution chimique.

L'étude qui en a été faite est absolument semblable à celle des sucres déjà étudiés et nous nous contenterons de donner les résultats obtenus et les conclusions que l'on peut en tirer.

Nos expériences ont porté sur cinq polyols : le mannitol, d'inositol, l'érythritol, le glycérol et le glycol. Les dosages de mannitol et d'inositol, ont été effectués par la méthode iodo-mercurielle de Fleury-Marque; l'érythritol, le glycérol et le glycol ont été évalués par la méthode sulfochromique de Hehner.

Les proportions utilisées pour cette étude sont les mêmes que celles qui ont été employées pour les expériences parallèles avec les sucres (voir page 104). Le tableau suivant indique le pourcentage d'entraînement pour des concentrations variables en baryte.

	Baryte introduite en cc. N/1,9						Entraînement %
	17	19	20	30	60	80	
Mannitol			56,7			64,7	
Inositol			71,4				
Erythritol			15,7				
Glycérol	7	8	6		5,3		
Glycol			2,3	2,3			

Le 2^e tableau montre quelle est la quantité maximum de polyol fixé dans les conditions d'alcalinité les plus favorables.

Ces expériences ont été effectuées avec les proportions utilisées pour les sucres (voir page 104).

	Quantité de polyol introd. en mgr.				Quantité de polyol entr. en mgr.
	300	600	1200	1500	
Mannitol	275	388	250		
Inositol		428			
Erythritol		95			
Glycérol	25	48			
Glycol	11	25		61	

Ces expériences montrent que au point de vue qualitatif les polyols comme les sucres sont susceptibles d'être entraînés à l'état de précipité cupro-barytique, mais au point de vue quantitatif, l'entraînement, contrairement à celui des sucres reste toujours incomplet et il est d'autant plus faible que le poids moléculaire du polyol et lui-même plus faible. S'il est satisfaisant pour l'inositol et même

pour le mannitol, il devient presque négligeable pour le glycol.

De plus, des expériences, il est vrai peu nombreuses que nous avons faites, il semble résulter que, contrairement à ce qui a lieu avec les sucres, la concentration en baryte n'influe pas sensiblement sur l'entraînement des polyols.

Dans le tableau ci-dessous nous indiquons dans une première colonne quelle est la quantité maximum de chaque polyol que nous avons fixée dans nos expériences avec 1 gramme de sulfate de cuivre; la deuxième colonne indique le nombre de molécules de polyol que fixe une molécule de cuivre :

	Poids de polyol fixé p. 1 gr. de SO_4Cu	Molécules de polyol fixé p. 1 mol. Cu
Mannitol	396 mgr.	0 mol. 5
Inositol.	438 mgr.	0,73
Erythritol.	97 mgr.	0,2
Glycérol	49	0,136
Glycol	65	0.20

Le nombre d'expériences étant encore plus restreint que pour les sucres nous ne devons interpréter les chiffres de ces deux tableaux qu'avec la plus grande réserve; aussi nous ne les donnons qu'à titre purement documentaire.

CHAPITRE V

Nous réunissons dans ce chapitre les essais d'entraînement que nous avons pratiqués au moyen du sulfate de cuivre et de la baryte sur le méthylglucoside β et sur le mélange glucose-saccharose.

1^o Méthylglucoside β

Dans ce glucoside la fonction aldéhydique est bloquée par le radical méthyle; nous avons pensé que cet état particulier donnerait à ce corps des propriétés spéciales envers la réaction de Salkowski. L'étude comprend toujours deux parties : 1^o L'influence de la concentration en baryte et 2^o L'influence de la concentration en sucre qui permet de connaître combien une quantité déterminée de sulfate de cuivre peut fixer au maximum de ce glucoside lorsqu'on réalise les meilleures conditions d'alcalinité.

Influence de la baryte. — Le méthylglucoside se comporte un peu comme le saccharose à ce point de vue. Pour sa fixation il est nécessaire d'employer un excès de baryte, mais la fixation passe de zéro à son maximum pour des variations faibles d'alcali. Une fois ce plafond atteint il est inutile d'ajouter encore de la baryte qui n'a plus aucune

influence. La baryte n'agit pas ici par sa masse comme pour le glucose et la plupart des autres sucres.

Néanmoins contrairement à ce qui se produit avec le saccharose le grand excès de baryte n'empêche pas la fixation.

D'autre part la peptisation est relativement forte et augmente avec la concentration en méthylglucoside.

Fixation en fonction de la concentration en baryte		Fixation en fonction de la concentration en méthylglucoside		
Baryte N/1,9	Entr. %	Méthylg. intr.	Méthylg. entr.	Entr. %
17 cc.	14,4	100 mgr.	25 mgr. 5	25,5 %
20 cc.	23,8	600 mgr.	153 mgr.	25,4 %
60 cc.	25,4			

La meilleure fixation que l'on ait obtenue avec 4 cc. 9SO¹Cu à 20 % est : 133 miligrammes (proportions habituelles).

Rapport optimum de fixation $\frac{\text{méthylglucoside } \beta}{\text{cuivre}} = \frac{1 \text{ mol. } 3}{7 \text{ mol}}$

2° Mélange glucose-saccharose.

Ces deux sucres se comportent bien différemment vis-à-vis de la réaction de Salkowski lorsqu'on les fait agir isolément. Il était curieux de connaître comment la fixation de l'un agissait sur celle de l'autre. Dans ce cas la réaction devient plus complexe que jamais. La peptisation très forte que produit le saccharose immobilise une partie de l'hydroxyde de cuivre qui ne peut plus servir à l'entraînement et cette perte en cuivre actif se fera sentir sur l'entraînement du glucose. Quant au saccharose il semble par

contre que la présence du glucose provoque une meilleure fixation de ce biose. Voici l'expérience pratiquée selon la technique habituelle (page 68).

Glucose à 10 °/o.	3 cc.
Saccharose à 10 °/o	10 cc.
SO ⁴ Cu à 20 °/o	4 cc. 9
Baryte N/1,9	70 cc.
H ² O q.s.p	100 cc. •

L'entraînement du glucose est de 74 °/o au lieu de 96 °/o dans les conditions habituelles

Quant au saccharose il s'en fixe 24 °/o, soit 240 milligrammes alors que pris isolément nous n'avions jamais pu en fixer plus de 163 milligrammes.

CONCLUSIONS

I. — Le glucose.

Cette étude nous a permis de confirmer dans ses grandes lignes le résultat de Salkowski et de Yoshimoto et de plus d'y ajouter un certain nombre de faits nouveaux :

1° Nous avons montré, comme le signale Salkowski, toute chose égale d'ailleurs, que la fixation du glucose dépend pour une grande part du mode opératoire et que par conséquent il importe de suivre minutieusement la technique;

2° Un phénomène interférent a fixé notre attention : c'est la solubilisation de l'hydroxyde de cuivre qui apparaît souvent au cours de la réaction — elle est attribuable à la double influence de l'alcali et du sucre sur le précipité obtenu — qui provoque une véritable « peptisation » du précipité.

Nous avons donné le moyen d'éviter les inconvénients des résultats de ce phénomène;

3° Il est nécessaire pour obtenir un entraînement du sucre, d'avoir un excès d'alcali libre, mais la précipitation du sucre en fonction de l'alcali est différente selon que l'on emploie la soude (adoptée par Salkowski) ou la baryte.

Avec la soude, l'entraînement du sucre après avoir passé par un maximum, décroît ensuite très rapidement lorsque l'alcali augmente. Il n'en est pas de même de la

baryte avec laquelle un large excès favorise l'entraînement du glucose;

4° Mais en même temps que par addition excessive d'alcali on augmente la proportion du glucose entraîné pour une même quantité de cuivre, il y a fixation d'une partie de cet alcali sur le précipité; cette fixation continue à augmenter lorsque, ayant précipité la quantité maximum de sucre, on continue à ajouter de l'alcali.

5° La quantité de glucose que peut fixer un poids donné d'hydroxyde de cuivre, ne dépend pas seulement de l'alcali mais de la concentration du glucose : si on fait croître celle-ci (à alcali constant), le glucose fixé augmente, mais jusqu'à un maximum. Cette quantité maximum fixée est proportionnelle à la quantité de cuivre en solution.

6° Il est possible de régénérer intégralement le glucose du précipité obtenu.

A la lumière de cette étude, le précipité obtenu apparaît, lorsqu'il a fixé la quantité maximum de glucose, comme un complexe contenant dans un rapport constant de l'hydroxyde de cuivre et du glucose sur lequel est fixée une quantité variable d'alcali qui assure sa stabilité.

II. — Lévulose et saccharose.

Si dans ses grandes lignes, l'étude du lévulose et du saccharose est semblable à celle du glucose, ces deux sucres se comportent cependant assez différemment pour mériter une attention particulière.

Dans les deux cas, avec des modalités variées, le phénomène que nous avons décrit sous le nom de « Peptisation » est très intense, ce qui nous a permis d'étudier son mécanisme; c'est à ce propos que nous avons trouvé le

moyen détourné d'annihiler les effets désastreux de ce phénomène sur l'entraînement des sucres.

III. — Autres sucres.

De plus nous avons généralisé cette réaction à toute une série de sucres non réducteurs et réducteurs (galactose, arabinose, lactose, maltose, stachyose, raffinose) qui, essentiellement se conduisent comme le glucose, montrant ainsi le caractère de généralité de la précipitation cuprobarytique.

IV. — Polyols.

De plus, nous avons établi, comme fait nouveau, que cette réaction s'applique aussi aux polyols (mannitol, erythritol, inositol, glycérol, glycol) et d'une façon d'autant plus marquée que le poids moléculaire est plus élevé. Nous montrons aussi que le mécanisme paraît être essentiellement le même.

Enfin de quelques essais il résulte que des glucosides tels que le méthylglucoside, sont susceptibles d'être également entraînés.

TROISIÈME PARTIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU CARBONE INDOSÉ DANS L'URINE

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

La question du carbone indosé urinaire, sur laquelle de nombreux travaux ont attiré l'attention (en particulier ceux de Lambling et de ses collaborateurs), est intimement liée à celle des glucides de l'urine normale. Cette dernière a donné lieu à des recherches nombreuses et très confuses.

Pour l'historique de cette dernière question, jusqu'en 1909, nous ne pouvons mieux faire que de renvoyer à l'excellente thèse de R. Bernier [3] sur laquelle nous aurons maintes fois l'occasion de revenir.

Ce problème des glucides de l'urine normale a été étudié jusqu'ici, le plus souvent, en cherchant à les mettre en évidence soit par leur pouvoir réducteur, soit par la formation d'osazones. Le pouvoir réducteur de l'urine normale a été signalé depuis fort longtemps et pour la première fois à notre connaissance, par Bence-Jones [2]

en 1861. Cet auteur admet le chiffre moyen de 1 gramme par litre, chiffre confirmé par de très nombreux mémoires dont l'un des derniers paraît être celui de H. Roth [24] en 1929 : ce mémoire indique des variations de 0 gr. 2 à 3 grammes.

Mais si tout le monde est d'accord sur l'existence d'un pouvoir réducteur de l'urine normale, si même tout le monde s'accorde à dire que l'origine de ce pouvoir réducteur est complexe, les divergences se manifestent sur la composition à attribuer à ce bloc-complexe de glucides réducteurs.

Deux autres moyens d'exploration sont alors mis en œuvre : formation d'osazone et action de la levure, qui ont conduit à des résultats contradictoires — en partie sans doute par erreur de méthode, en partie aussi par suite de la variabilité inévitable d'un milieu aussi complexe que l'urine.

En ce qui concerne la formation d'osazone, ce fait est connu depuis fort longtemps, il eut même les honneurs du « procédé clinique », il y a quelque vingt ans, sous le nom de réaction de Cammidge, et donna lieu à ce propos au magistral travail de L. Grimbert et R. Bernier cité plus haut. [3]

Celui-ci semble établir d'une façon irréfutable que l'osazone obtenue dans des conditions déterminées est constituée en majeure partie par *l'osazone de l'acide glycuromique*, l'autre partie moins abondante et moins constante étant de la glucosazone, or si l'on consulte les travaux parus depuis cette époque, on est fort étonné de constater que ces résultats n'ont été ni confirmés, ni infirmés. Bien mieux les nombreux mémoires parus sur la question des glucides de l'urine depuis une douzaine d'années, surtout

en Angleterre et en Amérique, semblent ignorer systématiquement ce travail. L'osazone de Bernier a bien été retrouvée par d'autres auteurs. En particulier Patterson [22] en 1926, puis Hassan [14] en 1928, décrivent des osazones qui sont évidemment semblables à celles de Bernier (mêmes formes cristallines, même solubilité dans l'eau chaude, dans l'acétone au demi). Patterson établit même, par la combustion du produit purifié que la formule est conforme à celle d'une hexosazone mais aucun des deux auteurs ne paraît connaître le travail de Bernier. Le seul fait véritablement discordant est le point de fusion, d'après Bernier l'osazone qui fond, non purifiée, vers 150-160°, fond après purification vers 130-132°, tandis que Patterson indique 170-182° et Hassan 152-153°. Nous n'avons pas nous-même retrouvé le point de fusion indiqué par Bernier, peut-être par suite d'une purification insuffisante.

A côté de cette osazone dont la nature établie par Bernier reste inconnue pour les autres auteurs, on s'accorde généralement à admettre que très souvent on trouve de la *glucosazone*. Ce fait paraît confirmé par I. Greenwald, J. Gross et M. Guire [12]. Hassan étudiant cette question sur 700 sujets a constaté que l'abondance de la glucosazone variait avec l'heure du prélèvement; il l'a caractérisée dans 30 à 40 % des cas dans les urines émises deux heures après les repas et seulement 7 % dans celles émises douze heures après les repas. C'est un élément normal, ce n'est pas un élément constant.

Par contre H. Roth [24] prétend l'avoir caractérisée constamment et *exclusivement*.

L'étude de la fermentescibilité par la levure de bière, utilisée déjà par Bernier, a conduit aux mêmes contradictions. En réalité de nombreuses causes d'erreur inter-

viennent et si l'on en tient compte, il semble bien malgré quelques opinions inverses (H. Roth) que pour une grande part, le pouvoir réducteur ne disparaît pas par fermentation alcoolique (Bernier, Lund et Wolf [17], Patterson).

En résumé on peut admettre que, parmi les glucides normaux de l'urine, on trouve l'acide glycuronique et d'une façon moins constante le glucose, mais on n'a pas établi à notre connaissance la part occupée par ces corps dans le pouvoir réducteur de l'urine. A la vérité, à côté de glucides réducteurs inconnus, on soupçonne bien l'existence d'autres glucides non réducteurs et de très nombreux travaux américains sont consacrés à ce sujet (Otto Folin et Hilding Berglund [8], Benedict et Osterberg [24], etc.) mais sans que la question en soit résolue.

Il nous a semblé que dans un sujet aussi obscur, il y aurait intérêt à délimiter le champ des recherches et, comme nous l'expliquons plus loin, nous avons pensé que l'étude précédente sur la réaction de Salkowski pourrait apporter une légère contribution à la connaissance de cette question.

Accessoirement nous avons été amené à reprendre en partie seulement l'étude de l'osazone de Bernier et de confirmer toutes ses données sauf un point ou deux.

CHAPITRE II

ESSAI D'ENTRAÎNEMENT DES PRINCIPES GLUCIDIQUES NORMAUX DE L'URINE

Comme nous l'avons rappelé plus haut, 30 à 40 % du carbone total urinaire (1) échappe à l'analyse; on peut admettre qu'une grande partie de ce carbone se trouve sous forme de substances glucidiques puisque les composés azotés que l'on connaît représentent 92 à 93 % de l'azote total urinaire. Comme l'urine contient en moyenne environ 10 grammes de carbone total par litre, il y a donc 3 à 4 grammes de ce carbone dont on ignore la forme chimique. Comme l'azote inconnu représente environ 1 gramme (les 7 p. 100 de 14 grammes teneur moyenne de 1 litre d'urine) et qu'on peut lui attribuer une quantité de carbone de l'ordre de 1 gramme (2), on peut donc estimer à 2 ou 3 grammes le carbone existant sous forme ternaire. Si l'on admet que les substances glucidiques contiennent en moyenne 40 % de carbone, il se trouverait donc dans l'urine 5 à 7 gr. 50 de substances ternaires de nature inconnue. Or le pouvoir réducteur normal de l'urine exprimé en glucose représente environ 1 gramme : on est amené ainsi à admettre la présence possible de substances

1. Voir sur ce sujet Lambling. *Précis de Biochimie*, 3^e édition, Masson, édit., Paris p. 494 et suivantes.

2. En effet pour 1 gramme d'azote les protéines contiennent environ 3 gr. 4 de carbone et l'urée 0 gr. 43.

glucidiques non réductrices (correspondant par exemple à la gomme animale des anciens auteurs).

Notre étude de la précipitation cupro-barytique nous ayant montré que l'entraînement s'étendait aux substances glucidiques même non réductrices, nous avons pensé appliquer la réaction de Salkowski à l'urine, et suivre l'entraînement du carbone et des substances réductrices : le carbone entraîné dans ces conditions pourrait être considéré avec quelque vraisemblance comme du carbone glucidique.

Après avoir tenté vainement de pratiquer un entraînement cupro-barytique directement sur l'urine nous nous sommes attaché à déterminer les conditions exactes de l'entraînement des principes réducteurs dans des défécats urinaires. En dosant dans le liquide surnageant et dans le précipité le pouvoir réducteur, le carbone total et l'azote total nous avons pu établir la répartition de ces différentes substances entre ces deux fractions. En plus du pouvoir réducteur vis-à-vis des liqueurs cupro-alcalines, nous avons songé à appliquer les récentes recherches de MM. Fleury et Marque sur les liqueurs mercurico-alcalines. Ces auteurs ont en effet montré que ces liqueurs étaient réduites non seulement par les sucres réducteurs, mais aussi par les sucres non réducteurs et tous les polyols depuis le glycol jusqu'au glycogène.

Enfin nous avons essayé d'identifier les substances entraînées par la précipitation cupro-barytique après les avoir régénérées du précipité. Cette caractérisation s'est bornée à la formation d'osazones, à des essais d'identification au moyen de quelques réactions colorées des sucres et au dosage comparatif par diverses méthodes.

Entraînement pratiqué directement sur l'urine (1) sans défécation.

Cet essai a été absolument infructueux l'hydroxyde de cuivre formé étant presque entièrement solubilisé par les matières organiques de l'urine. Le précipité est très peu abondant et contient surtout du sulfate de baryte.

La peptisation (2) de l'hydroxyde de cuivre par les substances organiques de l'urine n'est pas semblable à celle que produisent les sucres. Alors que dans ce dernier cas on pouvait encore précipiter l'hydroxyde en neutralisant exactement par l'acide sulfurique, une telle opération n'aboutit ici qu'à précipiter le sulfate de baryte et le cuivre reste en solution.

Donc avant de traiter l'urine par le sulfate de cuivre et la baryte il est nécessaire d'en éliminer la majeure partie des substances organiques par un défécant qui n'entraîne pas les sucres.

Entraînement après défécation.

Choix d'un défécant. — Il ne faut pas que le réactif utilisé amène dans le liquide où l'on pratiquera l'entraînement par le sulfate de cuivre et la baryte, une substance susceptible d'absorber un de ces deux composés.

1. Nous avons choisi pour nos expériences les urines du lever et celles de la matinée qui sont beaucoup plus concentrées que celles de l'après-midi ou de la soirée. Elles provenaient d'individus sains ayant un régime mixte normal.

2. On généralise ici le sens du mot « peptisation » en l'appliquant à toute solubilisation de l'hydroxyde de cuivre en milieu alcalin par des substances organiques.

Passons en revue les défécants couramment utilisés et voyons quels sont leurs inconvénients et leurs avantages respectifs. La défécation par l'acétate basique de plomb est à rejeter car elle risque d'entraîner une petite quantité de sucre.

Réactif de Patein et Dufau (1). — Nous avons déjà dit dans le premier chapitre l'inconvénient de cette défécation lorsqu'on utilise la méthode Lehmann pour doser les sucres : en éliminant le mercure par le zinc l'hydrogène naissant réduit partiellement les nitrates en nitrites qui gênent le dosage iodométrique. Il n'en est pas ainsi lorsqu'on élimine le mercure du défécant par l'hydrogène sulfuré, qui n'a aucune action sur les nitrates, qui eux-mêmes ne gênent pas le dosage. Ainsi utilisée la défécation nitro-mercurique nous servira pour traiter de grandes quantités d'urine car elle est beaucoup plus facile à employer que la défécation décrite au paragraphe suivant qui a par contre l'avantage d'éliminer du filtrat tous les constituants du réactif défécant. Néanmoins la défécation de Patein introduit des nitrates qui peuvent gêner les réactions colorées de caractérisation des sucres.

Cette défécation se pratique de la manière suivante :

Dans une fiole non jaugée de 500 centimètres cubes on introduit successivement :

Urine	250 cc.
Réactif	125 cc.
(2) Lessive de soude (36°B)	20 cc.

1. Réactif de Patein et Dufau : Verser dans une capsule de porcelaine 160 cc d'acide azotique $D = 1,39$ (40° B.) et ajouter en remuant vivement 220 gr. d'oxyde rouge de mercure ; au bout de 5 à 6 minutes d'agitation ajouter 160 cc. d'eau et porter à l'ébullition. Après dissolution totale laisser refroidir et verser en filet mince 40 cc. de lessive de soude au quart. Agiter, compléter à 1000 cc. avec de l'eau et filtrer.

2. Nous employons de la lessive de soude concentrée pour éviter la dilution.

La lessive de soude est introduite lentement en agitant. On s'assure que le filtrat n'est pas alcalin sinon on ajoute quelques gouttes d'acide acétique (1) pour repasser en milieu acide puis on filtre. On traite le filtrat par H_2S pour éliminer le mercure et on chasse H_2S par un fort courant d'air. On s'assure que H_2S est bien éliminé par le nitroprussiate en milieu alcalin. On traite ensuite ce liquide par la baryte afin d'en éliminer les phosphates et les autres substances précipitables par cet alcali comme il est expliqué au paragraphe suivant (voir page 127).

Défécation au sulfate mercurique-baryte (2). — Les défécations mercuriques en général consistent à précipiter en milieu alcalin sous forme de combinaisons mercuriques une grande partie des substances organiques qui se trouvent dans le liquide que l'on traite. L'alcali utilisé est habituellement la soude et l'ion acide se retrouve dans le filtrat sous forme de sel de sodium. Nous ne pouvons utiliser le sulfate mercurique et la soude pour nos défécations car le sulfate de soude qui se trouverait en forte proportion dans le défécât absorberait la baryte servant à l'entraînement. C'est pour cette raison que nous avons songé à remplacer la soude de la défécation par la baryte afin d'éliminer les ions SO_4 du filtrat; on se heurte dans ce cas à un autre inconvénient : la faible solubilité de cet alcali qui occasionne une dilution notable des liquides. Dans la technique suivante nous avons essayé de tourner cette difficulté.

1. S'arranger pour ne pas avoir à faire cette opération surtout si l'on doit pratiquer un dosage de carbone total sur le filtrat. Pour la même raison éviter l'emploi de la phénol phtaléine.

2. Voir page 49 la préparation de ce réactif.

Technique. — Dans une fiole jaugée de 500 centimètres cubes en Bohême ou Pyrex on introduit successivement :

Uriné filtrée. 150 cc.
Réactif 75 cc.

On refroidit ce mélange vers 5° en plongeant la fiole dans la glace. On ajoute ensuite lentement afin qu'il n'y ait pas d'élévation notable de température et en agitant constamment, la solution faite à l'avance et à l'ébullition.

Baryte hydratée pure (non carbonatée) . . 72 gr.
Eau distillée bouillante 200 cc.

On complète ensuite au trait de jauge avec de l'eau distillée. On mélange bien et on filtre immédiatement.

Si les proportions ci-dessus ont été bien observées, le filtrat est sensiblement neutre et contient peu de mercure. On élimine l'excès de mercure par H^2S et on chasse H^2S par un courant d'air. On s'assure que tout l'hydrogène sulfuré est bien éliminé par le nitroprussiate en milieu alcalin ou plus simplement par l'odorat.

Le tableau suivant nous apprend ce que l'urine perd par cette défécation.

	Urine en gr. par litre	Défécât chiffres rapp. au litre d'urine	Perte %
Azote total	8,17	2,19	73,1
Carbone total . . .	7,40	2,65	64,2
Urée	15,5	4,23	72,8
Chlorures (en NaCl) .	15,44	7	55
Sulfates (en SO_4Na^2).	1,85	5,22	

On remarque dans ce tableau que les sulfates ne sont pas entièrement éliminés; en effet l'action de la baryte n'a pas été poussée plus loin que la neutralisation car en milieu alcalin l'oxyde de mercure peut fixer des sucres. Une partie des ions SO_4 est combinée avec les ions Na des sels urinaires dont l'acide a été précipité dans la défécation (phosphates, etc.). Aussi un traitement par la baryte s'impose encore dans ce défécât pour le débarrasser le plus possible des substances qu'il contient sans toucher aux substances glucidiques.

On traite donc le liquide, obtenu après les opérations ci-dessus, par l'eau de baryte jusqu'à cessation de précipité (1/15 en vol. de Baryte N env.). On filtre et neutralise exactement par l'acide chlorhydrique, les chlorures ne gênant pas la précipitation cupro-barytique. On pourrait aussi traiter le filtrat par le chlorure de baryum.

On obtient ainsi un liquide contenant les substances glucidiques et ne contenant plus que 35 à 40% des matières organiques primitives.

Les deux défécations que nous venons d'exposer nous permettent d'obtenir deux liquides qui ne diffèrent que par les points suivants :

Le défécât de Patein contient une forte quantité de nitrate de soude, mais en revanche il est plus concentré en substances glucidiques que le défécât au sulfate-mercure baryte (dilution moins grande au moment de la défécation). Néanmoins on peut ramener ce défécât à la concentration primitive par distillation dans le vide ($t < 50^\circ - 20 \text{ mm. Hg}$).

Suivant les opérations que l'on veut pratiquer on s'adresse donc à l'une ou l'autre de ces défécations. Ainsi pour caractériser les sucres par leurs réactions colorées

on emploiera le défécât au sulfate mercurique-baryte; dans tous les autres cas on emploiera la défécation au Patein car elle est plus facile à réaliser et ne nécessite pas de concentration du défécât dans le vide.

Entraînement des substances glucidiques à partir des défécats. — Cette étude est calquée sur celle d'un sucre ordinaire (1).

Dans les expériences de détermination des conditions d'entraînement nous avons dosé les substances réductrices restant dans le liquide surnageant et c'est d'après le chiffre trouvé que nous avons calculé le pourcentage d'entraînement.

1^{re} DÉTERMINATION DES CONDITIONS D'ENTRAÎNEMENT MAXIMUM. — Nous avons effectué deux séries d'expériences : la première a eu pour but de déterminer les conditions optima d'alcalinité et dans la deuxième nous avons déterminé la quantité minimum de sulfate de cuivre nécessaire pour obtenir l'entraînement maximum.

Les proportions suivantes ont été utilisées pour la première détermination. Le défécât sur lequel nous avons fait ces essais provenait d'une défécation au sulfate mercurique — baryte dont le filtrat avait été concentré par distillation dans le vide ($t < 50^{\circ}$ — 20 mm. Hg) de manière à le ramener au volume primitif avant défécation. Il contenait par litre avant hydrolyse 0 gr. 501 de principes réducteurs exprimés en glucose.

Les dosages ont été effectués au moyen de la méthode

1. Voir la technique page 68.

Lehmann modifiée en microméthode, dans le liquide sur-nageant après en avoir séparé le précipité.

Défécât. 40 cc.
 SO^4Cu à 20 % . . . 3 cc.
 Baryte N/1,2. . . . variable

Le tableau ci-dessous montre qu'il est nécessaire d'opérer avec un grand excès de baryte pour obtenir un bon entraînement :

Baryte N/1,2	Entr. %
7 cc.	74
17 cc.	87,2
27 cc.	87,2

Enfin nous avons fait varier la quantité de sulfate de cuivre par rapport au défécât.

Défécât. 40 cc.
 SO^4Cu à 20 % . . . variable.
 Baryte N/1,2. . . . 30 cc.

Le tableau ci-dessous montre que avec 3 centimètres cubes de sulfate de cuivre à 20 % on obtient l'entraînement maximum :

SO^4Cu à 20%	Entr. %
1 cc. 5	68
3 cc.	87,2
6 cc.	85

Maintenant que sont établies les conditions de la précipitation nous allons les appliquer dans l'intention d'extraire les substances glucidiques du défécât.

2° TECHNIQUE DE PRÉCIPITATION ET DE RÉGÉNÉRATION DES SUBSTANCES ENTRAÎNÉES PAR LE PRÉCIPITÉ. — Dans une fiole à large goulot de 500 centimètres cubes on introduit 200 centimètres cubes de défécât : on place la fiole dans la glace pilée de manière à abaisser la température du liquide vers 4 à 5°. Au moyen de deux burettes contenant l'une l'eau de baryte titrée et l'autre la solution de sulfate de cuivre à 20 % on introduit alternativement en plusieurs fois (20 à 40 affusions alternatives) ces deux réactifs en agitant soit :

SO^4Cu à 20%. . . 12 cc. — par 1 cc. env.
 (1) Baryte $\frac{\text{N}}{1,2}$. . . 80 cc. par 6 cc. env.

On laisse en contact pendant une heure la fiole étant bouchée et toujours placée dans la glace. On a soin d'agiter de temps en temps (toutes les 3 à 5 minutes). Au bout de ce temps on centrifuge à grande vitesse et l'on recueille d'une part : *le liquide surnageant* et d'autre part : *le précipité*.

a) *Traitement du liquide surnageant*. — Lorsqu'on a employé les proportions indiquées plus haut ce liquide est limpide (il se trouble à l'air par suite de la carbonatation) de couleur bleue. On en prélève 10 centimètres cubes sur lesquels on dose l'alcali puis le cuivre (par l'iode et le sulfocyanure en sol. acide).

Alcalinité : 10 cc. $\longrightarrow$ 12 cc. 5 SO^4H^2 $\frac{\text{N}}{10}$
 Cuivre en solution : 10 cc. $\longrightarrow$ 0 cc. 1 hypo $\frac{\text{N}}{10}$

1. La baryte très concentrée que l'on emploie (N env. ou 15 %) doit être conservée dans une étuve à 40°. On ne doit la sortir de l'étuve qu'au moment de l'emploi et opérer assez vite de peur qu'il se dépose dans la burette des cristaux obstruant le robinet. Par contre le sulfate de cuivre doit être introduit goutte à goutte et il est préférable de commencer la première affusion par la baryte.

On acidifie ensuite largement le reste du liquide par de l'acide sulfurique à 20 % de manière à précipiter toute la baryte et dissoudre le cuivre en milieu acide.

On filtre le SO_4Ba formé et l'on fait passer H_2S pour éliminer Cu. On chasse H_2S en excès par un courant d'air. Le liquide est ensuite neutralisé par de la soude diluée. (Eviter l'emploi de la phtaléine à cause des dosages ultérieurs, se servir de papier de tournesol). Dans toutes ces opérations on note les dilutions effectuées.

Dans le liquide neutre ainsi obtenu débarrassé du cuivre peptisé et de la baryte en excès on dose successivement :

1° Les principes réduisant les liqueurs cupro-alcalines (sucres réducteurs);

2° Les principes réduisant les liqueurs mercurico-alcalines (sucres, polyols ou polysaccharides);

3° L'azote total;

4° Le carbone total (par la méthode de Nicloux).

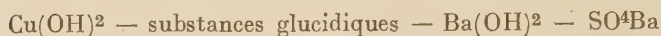
1. *Traitement du précipité cupro-barytique.* — D'après ce que l'on a vu le précipité devrait contenir 85 % des principes réducteurs du défécât, en réalité il y a une forte perte due à la labilité des sucres urinaires, sur laquelle nous reviendrons. Il faut donc régénérer les substances glucidiques du précipité en le dissolvant dans un liquide approprié et se débarrasser des autres corps qui se dissoudront en même temps.

a) *Lavage.* — Avant de le dissoudre nous avons songé à laver le précipité par une eau de baryte de même titre que le liquide surnageant en nous basant sur la faible dissociation du complexe par l'eau (1). Nous nous sommes

1. Voir page 63.

assurés qu'une telle opération ne libérerait pas de substances réductrices. On lave donc à deux reprises le culot de centrifugation par 5 fois son volume d'eau de baryte, en centrifugeant pour séparer les eaux de lavages.

b) *Dissolution*. — Le précipité est formé de :



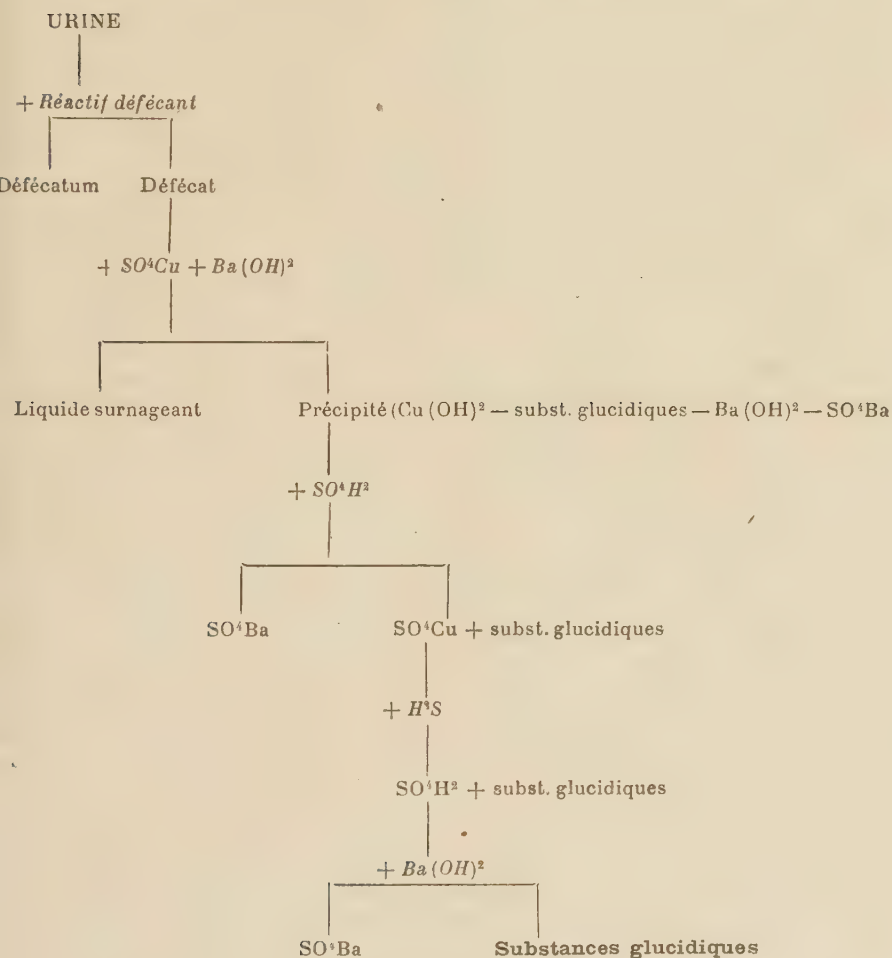
En le traitant par l'acide sulfurique dilué (1) on précipite la baryte sous forme de SO^4Ba et l'hydroxyde de cuivre se dissout en libérant les substances glucidiques : en filtrant (ou centrifugeant) on a une solution acide de sulfate cuivrique contenant les substances glucidiques.

Après avoir complété avec de l'eau à un volume déterminé (soit 100 cc. pour les proportions ci-dessus) on élimine Cu par H^2S , puis on filtre et élimine H^2S par un courant d'air. On neutralise le liquide acide ainsi obtenu par la baryte cristallisée (2) en employant le papier de tournesol comme indicateur : le filtrat final contient uniquement la matière organique entraînée.

On peut schématiser ces différents fractionnements de la manière suivante :

1. La quantité d'acide à employer est facile à calculer d'après la quantité d'hydroxyde de cuivre et d'alcali fixé. D'une manière approximative on peut utiliser pour cette dissolution autant de centimètres cubes d'acide sulfurique à 20 % qu'on a introduit de centimètres cubes de SO^4Cu à 20 %.

2. Afin d'éviter une dilution ; on calcule la quantité à employer d'après le dosage de l'acidité du liquide effectué sur un centimètre cube de prélèvement.



Au cours des manipulations où les précipités sont volumineux on perd évidemment une partie des principes réducteurs, mais ce procédé a tout au moins l'avantage d'amener une séparation des principes glucidiques de l'urine. Nous verrons que l'on peut former des osazones avec une très grande facilité à partir des liquides ainsi obtenus.

3^o ENTRAÎNEMENT DE GLUCOSE INTRODUIT DANS LE DÉFÉCAT.

— La détermination des conditions de précipitation maximum nous a montré que le meilleur entraînement obtenu est voisin de 85 %. Il reste donc dans le liquide surnageant environ 15 % des principes réducteurs totaux. Afin de confirmer qu'il y avait bien une partie non entraînable, nous avons traité de nouveau un liquide surnageant par le sulfate de cuivre et la baryte : on retrouve encore la même quantité de principes réducteurs dans le filtrat. Nous avons ensuite introduit dans ce filtrat une proportion de glucose de 2 ‰ que nous avons pu entraîner totalement par un précipité cupro-barytique. Néanmoins le nouveau filtrat possédait encore son pouvoir réducteur primitif.

Voici les expériences effectuées sur un liquide surnageant contenant 100 milligrammes de principes réducteurs exprimés en glucose par litre.

1 ^o Liquide surnageant.	50 cc.
SO ⁴ Cu à 20 %	5 cc.
Baryte N/1,24.	20 cc.

Le *filtrat* obtenu contient 77 milligrammes par litre (exprimés en glucose). Comme dans l'opération ci-dessus on a opéré une dilution de 2/3 le poids de principes réducteurs rapporté au liquide surnageant est de 111 milligrammes par litre. On retrouve donc le chiffre primitif à 10 % près.

2 ^o Liquide surnageant.	25 cc.
Glucose anhydre.	0 gr. 050
SO ⁴ Cu à 20 %	2 cc. 5.
Baryte N/1,24	22 cc. 5

Principes réducteurs du filtrat exprimés en glucose : 53 milligrammes par litre. La dilution étant de $\frac{1}{2}$ il demeure par conséquent 106 milligrammes de principes réducteurs par litre de liquide surnageant.

Donc il est bien établi qu'il y a une partie des principes réducteurs urinaires qu'il est impossible de fixer par le précipité cupro-barytique, alors que le glucose placé dans les mêmes conditions est entraîné normalement. Ce fait établit déjà que le pouvoir réducteur de l'urine normale n'est pas dû à un seul corps ; il y a les *substances réductrices entraînaibles* par le sulfate de cuivre et la baryte et les *substances réductrices non entraînaibles*.

Nous avons tenté l'identification des premières, quant aux substances non entraînaibles nous n'avons pas poursuivi leur étude ; les quelques essais que nous avons faits ont été négatifs. C'est ainsi que nous n'avons pu obtenir avec le liquide surnageant aucune osazone et que après hydrolyse, nous n'avons constaté aucune augmentation du pouvoir réducteur (1).

4° LABILITÉ DES PRINCIPES RÉDUCTEURS DE L'URINE NORMALE.

De nombreuses expériences comportant successivement défécation de l'urine, précipitation cupro-barytique, dissolution des culots de centrifugation, etc. ont été effectuées. Les bilans accusent des pertes en principes réducteurs allant jusqu'à 60 % dans deux de ces expériences.

1. Il nous est arrivé d'obtenir des liquides surnageants dont le pouvoir réducteur augmentait après hydrolyse ; lorsque la précipitation cupro-barytique n'est pas pratiquée dans les conditions strictes que nous avons exposées, il reste dans le liquide surnageant une partie des sucres entraînaibles dont le pouvoir réducteur augmente fortement après hydrolyse.

Nous avons cherché à déterminer la cause de cette altération.

En suivant les opérations pratiquées à partir du moment où l'on traite le défécât on peut faire les remarques suivantes :

1° *La concentration du défécât par distillation dans le vide.* — Un dosage des principes réducteurs avant et après la concentration a accusé une perte de 19 % par cette opération.

Néanmoins cette concentration paraît nécessaire mais il faut se contenter de ramener au volume primitif de l'urine non déféquée. On doit de plus opérer à la plus basse température possible et bien neutraliser le défécât avant de le chauffer.

2° *L'entraînement proprement dit.* — L'affusion des réactifs doit être exécutée minutieusement comme il est indiqué dans la technique et l'on doit éviter autant que possible les élévations de température qui occasionneraient l'oxydation des substances réductrices dans le flacon d'expérience ; c'est probablement la raison pour laquelle la vitesse de la manipulation semble favorable à l'entraînement. Il est donc recommandable de traiter les précipités pour en régénérer les corps réducteurs, immédiatement après la centrifugation.

3° *Régénération des substances entraînées dans le précipité.* — C'est surtout ce traitement qui doit être mené rapidement. Les précipités sont volumineux et la centrifugation est préférable à la filtration pour bien essorer et retirer le plus possible de liquide. Enfin lorsqu'on neutralise, en dernier lieu, l'acide sulfurique par la baryte il faut agiter soigneusement car le milieu alcalin peut favoriser la fixation de certains corps sur

l'adsorbant énergique qu'est le sulfate de baryte précipité.

En prenant toutes ces précautions nous sommes arrivés à ne perdre qu'une proportion relativement faible des substances réductrices du défécât (20 % au max.) : mais ceci prouve la fragilité de la portion réductrice des glucides normaux ainsi extraits de l'urine. Par contre le liquide de dissolution des culots une fois traité est peu altérable. On arrive ainsi à fractionner les substances réductrices du défécât de la manière suivante :

Liquide surnageant , . . .	20 %
Précipité cupro-barytique	60 %
Perte . ,	20 %

Naturellement ces chiffres sont approximatifs.

Répartition des constituants du défécât entre le liquide surnageant et le précipité cuprobarytique.

Nous avons appliqué minutieusement la technique décrite dans les pages précédentes, à une urine et nous avons cherché à déterminer comment se répartissent le carbone, l'azote et les substances réductrices entre le précipité cupro-barytique et le liquide surnageant.

Nous avons tout d'abord établi la composition d'un défécât provenant du traitement de l'urine par le sulfate mercurique et la baryte (1).

1. Ce défécât a été ramené à la concentration de l'urine par distillation dans le vide ($t < 50^\circ$ — 20 mm. Hg) ; c'est-à-dire qu'après avoir fait par la défécation une dilution de 3 volumes à 10 volumes on a fait une concentration de 10 volumes à 3 volumes (voir page 127).

Dans ce liquide nous avons dosé les principes réducteurs avant et après hydrolyse par la méthode de Lehmann modifiée en microméthode. L'hydrolyse a été faite au moyen de l'acide sulfurique (2 % en vol.-demi-heure d'ébullition au réfrigérant ascendant). Nous avons évalué le pouvoir réducteur du défécât vis-à-vis des liqueurs mercurico-alcalines concentrées (méthode Fleury-Marque): le chiffre ainsi obtenu exprimé en mannitol représente non seulement les sucres réducteurs, mais aussi les sucres non réducteurs, les polyols et les polysaccharides.

L'azote total a été dosé par la méthode Kjeldahl et le carbone total par la microméthode Nicloux. Enfin pour les autres substances : chlorures, sulfates, phosphates, acide urique, nous avons adopté les méthodes classiques habituelles (1).

Composition d'un défécât par litre (en grammes).

Principes réducteurs (liq. cupro-alcaline	} avant hydrolyse.	0,416
(exprimés en glucose)		
	} après »	0,901
Principes réducteurs (liq. mercurico-alcalines) (exprimés en mannitol)		2,00
Urée.		4,80
Acide urique.		0,018
Azote total		2 85
Carbone total.		3,15
Chlorures en ClNa		4,10
Sulfates en SO^4Na^2		8,75
Phosphates en PO^4HNa^2		0,25

Examinons comment se répartissent l'azote total et le carbone total entre les substances organiques dosées dans le défécât.

1. Voir Guiart et Grimbert [13].

I. — L'AZOTE TOTAL est de 2 gr. 85 par litre.

Les substances organiques azotées dosées du défécât sont :

a) l'Urée $\left(\frac{7}{15} \text{ N}\right)$ — 4 gr. 80 soit 2 gr. 24 Azote.

b) l'acide urique 0 gr. 018 (négligeable)

*L'azote indosé est donc de 2 gr. 85 — 2 gr. 24 = 0 gr. 61
soit 21,4 %*

II. — LE CARBONE TOTAL est de 3 gr. 15 par litre.

Les substances organiques dosées du défécât sont :

1° les substances quaternaires ou azotées :

a) l'Urée $\left(\frac{1}{5} \text{ C}\right)$ 4 gr. 80 soit 0 gr. 96 Carbone.

b) l'acide urique — 0 gr. 018 (négligeable).

2° les substances ternaires : soit 2 gr. 19¹C (3,15-0,96).

a) Sucres, Polyols, Polysaccharides $\left(\frac{4}{10} \text{ C}\right)$: 2 gr. soit

0 gr. 80 Carbone.

*Le carbone indosé du défécât est donc de 3 gr. 15 —
(0,96 + 0,80) = 1 gr. 39 soit 44 %.*

Il est à remarquer que nous avons exprimé en mannitol les substances dosées par la liqueur mercurico-alcaline (Fleury-Marque); or nous savons que les polyols ne réduisent pas cette liqueur de la même manière que certains sucres : ainsi par exemple le glycogène réduit 4 à 5 fois moins que le mannitol, le stachyose et le raffinose réduisent environ 2 à 3 fois moins (1). Aussi si l'on se trouve en présence de tels corps, le chiffre représentant le résultat du dosage par la méthode Fleury-Marque est

1 *Marque*, Thèse de Doct. Fac. de Pharmacie, Paris, 1929, p. 36.

trop faible. Il est donc possible que notre estimation du carbone évalué d'après cette méthode soit trop faible.

Tableau de la répartition des constituants du défécât entre le liquide surnageant et le précipité.

	Defécât.	Liq. surna- geant	Préci- pité	Perte	
Principes réd. (liq. cupro- alcalines	av. hydrolyse ap. hydrolyse	0,416 0,901	0,054 0,184	0,290 0,487	0,072 soit 17,3% 0,230 — 25,5%
Principes réd. des liq. mercu- rielles	2,00	0,363	0,835	0,801 — 40,5%	
Azote total	2,85	2,67	0,151	0,029 — 1%	
Carbone total.	3,15	2,52	0,860	0 — 0	

REMARQUE. — On retrouve intégralement l'azote et le carbone ce qui prouve que la perte en pouvoir réducteur est bien due à la labilité des substances qui donnent à l'urine son pouvoir réducteur et non pas à l'entraînement de ces substances par les précipités que nous avons séparés au cours des manipulations.

Nous allons examiner successivement la répartition du carbone et de l'azote entre les substances organiques dosées : 1° dans le liquide surnageant ; 2° dans le précipité.

Liquide surnageant.

I. — L'AZOTE TOTAL est de 2 gr. 67 soit 93,7 % de l'Azote du défécât, donc les substances azotées ne sont pas sensiblement entraînées par le précipité cupro-barytique.

II. — LE CARBONE TOTAL est de 2 gr. 52 soit 80 % du carbone du défécât.

Il est constitué par :

1° *Le carbone quaternaire ou azoté.*

Ce carbone est sous forme de :

a) carbone uréique correspondant à 2 gr. 24 d'azote uréique ce qui représente 0 gr. 96 de carbone.

b) carbone non uréique égal à 2,67-2,24 soit 0 gr. 43 ce qui grossièrement représente environ 0 gr. 43 de carbone.

Le carbone quaternaire azoté serait donc de : $0,96 + 0,43 = 1 \text{ gr } 39$.

2° *Le carbone ternaire* qui égale la différence entre le carbone total 2 gr. 52 et le carbone quaternaire 1,39, soit 1 gr: 13.

On retrouve donc $\frac{1,13 \times 100}{2,19}$ soit 51,5 % de carbone ternaire dans le liquide surnageant.

Dans ce carbone ternaire, non entraînable par le précipité cupro-barytique, il y a encore des substances qui peuvent réduire les liqueurs cupro-alkalines et mercurico-alkalines. Si on calcule le carbone de ces substances on a :

a) substances réductrices (liqueur cupro-alkaline) 0 gr. 184 soit 0 gr. 0736 C (après hydrolyse).

b) sucres, polyols, polysaccharides (liqueur mercurielle) 0 gr. 363 soit 0 gr. 1452 C.

Il n'y a donc que $\frac{0,145 \times 100}{1,13}$ soit 11 % de ce carbone que l'on puisse considérer à la rigueur comme glucidique; 80 % de ce carbone ternaire serait certainement autre chose que des glucides.

Précipité.

I. L'AZOTE TOTAL est de 0 gr. 151 soit 5,3 % de l'azote du défécât.

II. Le CARBONE TOTAL est de 0 gr. 860 (soit 27, 3 % du carbone total du défécât).

Dans ce carbone on peut distinguer :

1° *Le carbone quaternaire ou azoté.*

Comme on retrouve 0 gr. 151 d'azote qui presque certainement n'est pas uréique, on peut admettre selon la moyenne que nous avons adoptée que 0 gr. 151 de carbone est attaché à cet azote.

2° *Le carbone ternaire.*

Il égale la différence entre le carbone total 0 gr. 860 et le carbone quaternaire 0 gr. 151 soit 0 gr. 710.

Si on l'exprime en glucides à 40 % de carbone, il correspond à **1 gr. 78** de glucides; or les glucides totaux du précipité estimés à partir du mercure réduit (méthode Fleury-Marque) sont donnés par la différence entre 2 grammes (glucides totaux avant défécation) et 0 gr. 363 (glucides totaux du liquide surnageant) (1) soit **1 gr. 43**. On a donc des chiffres du même ordre de grandeur et cette concordance permet d'affirmer le *caractère glucidique du carbone ainsi séparé*.

Conclusions.

On peut conclure de cette étude de la répartition du carbone dans l'urine étudiée.

1° Que dans le carbone subsistant dans notre urine après défécation mercurique, il y en a près de 70 pour 100 à l'état de composés ternaires (2 gr. 19 pour un total de 3 gr. 15).

1. Nous n'utilisons pas le chiffre obtenu par titration sur le précipité qui est très largement défécitaire, indiquant une altération au cours de l'opération. Nous admettons comme plus vraisemblable que cette altération a lieu dans le précipité.

2° Après traitement de ce défécât par le sulfate de cuivre et la baryte en excès, on retrouve dans le liquide surnageant environ 50 p. 100 de ce carbone ternaire (1 gr. 13 sur 2 gr. 19) et sur ces 1 gr. 13 il n'y en a guère plus de 1 5 qui présente des propriétés mercurico-réductrices.

3° L'autre moitié de ce carbone ternaire est entraînable à l'état de combinaison cupro-barytique. Calculé en glucides à 40 % de carbone, il représente pour 0 gr. 71 de carbone, 1 gr. 78 de glucides, chiffre coïncidant d'une façon satisfaisante avec les glucides calculés à partir du pouvoir mercurico-réducteur (1 gr. 43). Le pouvoir cupro-réducteur n'est que de 0 gr. 36 avant hydrolyse et 0 gr. 72 après hydrolyse.

On peut donc estimer que dans le cas étudié, le carbone à l'état de composés glucidiques, caractérisé à la fois par son entraînement cupro-barytique et par son pouvoir mercurico réducteur ne représente que environ 30 p. 100 du carbone ternaire après défécation $\left(\frac{0,70}{2,19}\right)$, soit environ 1 gr. 50 de glucides.

Sur ces 1 gr. 50 il n'y en aurait encore que 1/3 réduisant les liqueurs cupro-alcalines avant hydrolyse et 1/2 après hydrolyse. Cette étude établit donc la complexité du carbone glucidique et délimite l'ordre de grandeur des substances glucidiques totales dans l'urine étudiée.

CHAPITRE III

TENTATIVE D'IDENTIFICATION DES PRINCIPES GLUCIDIQUES EXTRAITS DE L'URINE NORMALE

Nous avons déjà vu page 133 que l'on pouvait classer les substances réductrices de l'urine en deux parties :

1° les substances *entraînables* par le précipité cuprobarytique ;

2° les substances *non entraînables* par ce précipité. Seules les premières ont fait l'objet des essais de ce chapitre.

I. — Dosage des substances réductrices du liquide de dissolution du précipité par différentes méthodes.

Les méthodes chimiques de dosage des sucres réducteurs corps ternaires contenant plusieurs fonctions alcools et une fonction aldéhyde ou cétone, utilisent l'action des réactifs oxydants sur ces fonctions. Parmi ces réactifs les liqueurs cupro-alcalines servent à définir les sucres dits « réducteurs », c'est-à-dire ceux qui contiennent une fonction aldéhyde ou cétone ; l'iode en milieu alcalin attaque exclusivement les sucres aldéhydiques ; par contre les liqueurs mercurico-alcalines peuvent servir que la con-

centration en alcali est faible ou forte, attaquer en pratique, soit uniquement les sucres réducteurs (procédé Baudouin), soit aussi les sucres non réducteurs, les polyols et les polysaccharides (procédé Fleury-Marque).

Il doit donc être possible de tirer de la comparaison des résultats obtenus en appliquant ces méthodes à une même solution sucrée, certaines déductions sur la composition possible de cette solution. C'est ce qui nous a déterminé à appliquer ces procédés au liquide de dissolution d'un précipité cupro-barytique obtenu à partir d'une urine déféquée au mercure.

Résultats exprimés en glucose	Av. hydrolyse	Ap. hydrolyse
Liqueur cupro-alkaline (Lehmann) . .	0,870	1,260
Iode alcalin (Bougault-Pauchard). . .	0,873	0,990
Liqueur mercurielle (Baudouin) . . .	0,665	0,846
Liqueur mercurielle (Fleury-Marque) .	1,410	

Si l'on considère exclusivement les chiffres obtenus sur le liquide avant hydrolyse, on s'aperçoit qu'il y a une coïncidence remarquable entre le chiffre obtenu par le procédé de réduction cuivrique et celui de la méthode iodométrique. Il semble donc que, avant hydrolyse, il n'existe dans la solution *aucun sucre cétonique*.

Du résultat inférieur obtenu par la méthode Baudouin-Lewin, on peut peut-être déduire que le pouvoir réducteur n'est pas dû entièrement à un sucre simple tel que le glucose, car ces sucres donnent comme nous nous en sommes assuré des résultats comparables par les deux méthodes.

La méthode Fleury-Marque prouve, ainsi que nous

l'avons vu, que la solution contient des glucides non réducteurs.

Conclusions.— Les solutions contiennent un mélange de glucides non réducteurs et réducteurs, plus ou moins complexes. Les glucides non réducteurs sont exclusivement aldéhydiques, susceptibles de libérer par hydrolyse des sucres réducteurs aldéhydiques et cétoniques. Quant aux différences observées après hydrolyse, elles peuvent s'interpréter comme dues à la libération de sucres cétoniques (hypo-thèse du saccharose).

*Les principes réducteurs normaux de l'urine
au point de vue polarimétrique.*

L'urine normale a un pouvoir rotatoire lévogyre qui varie de $-0^{\circ}2$ à $-1^{\circ}9$ (Létienne et Masselin). On a attribué ce pouvoir rotatoire à différentes substances. Bernier, après Fluckiger, pense qu'elle est due à la présence de conjugués glycuroniques.

Nous avons fait l'examen polarimétrique de plusieurs liquides provenant de la dissolution des culots de précipitation. Pour cela nous avons concentré dans le vide ces liquides, dont le pouvoir réducteur était connu, de manière à avoir une solution contenant environ 1 % de principes réducteurs exprimés en glucose. *Nous n'avons jamais constaté la moindre déviation* que l'examen ait été fait avant ou après hydrolyse.

Pour bien nous assurer qu'il n'y avait pas eu perte du produit par la concentration, nous avons dosé de nouveau le pouvoir réducteur du liquide après l'examen polarimétrique: il n'avait pas changé.

Au premier examen on pouvait penser qu'il y avait

compensation optique entre les sucres contenus dans le liquide, mais cette supposition devient invraisemblable après l'examen du liquide hydrolysé qui montre la même inactivité optique.

Deux hypothèses sont encore plausibles :

1° On est en présence de sucres racémisés;

2° Ces sucres sont inactifs sur la lumière polarisée.

Dans ce dernier cas on serait amené à conclure que le pouvoir rotatoire lévogyre de l'urine normale est due à des substances autres que celles que nous avons extraites.

II. — Formation d'osazone.

Un fait remarquable est la facilité avec laquelle les liquides de dissolution des précipités cupro-barytique donnent avec l'acétate de phénylhydrazine à chaud un précipité formé en apparence d'une seule sorte de cristaux bien définis ayant tous les caractères physiques d'une osazone. Cette osazone nous a paru être la même avant et après hydrolyse à en juger par l'examen microscopique et peut être obtenue dans des solutions très diluées (au 1/10.000^e et plus).

Aspect microscopique.

Cette osazone ne cristallise qu'après refroidissement complet. Les cristaux abondants de couleur jaune foncé se présentent en aiguilles ou lamelles groupées en étoiles. Lorsque ce sont des groupements de lamelles, ces étoiles sont facilement dissociables; lorsqu'on les écrase entre la lamelle et la lame on aperçoit au microscope une multitude de bâtonnets ayant l'aspect de lame de sabre.

Les aspects microscopiques de cette osazone sont d'ailleurs variables, mais le groupement en étoiles des cristaux est un caractère que l'on retrouve *toujours*, sauf dans le cas de dissociation mécanique signalée plus haut.

Suivant le nombre des lamelles groupées on a des étoiles plus ou moins fournies. Lorsque la cristallisation donne des aiguilles, il peut arriver que le groupement forme des oursins magnifiques.

On observe alors une série de groupements intermédiaires depuis l'étoile très peu fournie à longues branches et noyau punctiforme, jusqu'à l'oursin brun foncé laissant à peine dépasser quelques aiguilles jaunes. On observe aussi quelquefois des étoiles composées à branches ramifiées.

Caractères physiques.

En face du polymorphisme des cristaux microscopiques de cette osazone, les autres caractères physiques sont constants.

a) SOLUBILITÉ. — 1° *Dans l'eau.* — Elle est très soluble dans l'eau bouillante mais pratiquement insoluble dans l'eau froide. Elle ne cristallise qu'au refroidissement complet. Les eaux-mères de cristallisation sont à peine teintées de jaune et donnent par évaporation un résidu quasi nul.

2° *Dans l'alcool méthylique et l'acétone au demi.* — Elle est très soluble dans ces deux solvants, un peu plus cependant dans le premier que dans le second.

b) POINT DE FUSION. — Nous avons déterminé le point de fusion au bloc Maquenne comme l'indique G. Bertrand.

Avant de prendre le point de fusion nous avons purifié l'osazone par lavages minutieux à l'eau froide puis après séchage dans le vide à la benzine. Enfin les cristaux ainsi lavés ont été dissous dans l'eau bouillante et reformés lentement à froid (dans le B. M.)

C'est sur ces cristaux secs que nous avons déterminé le point de fusion instantanée.

L'osazone projetée sur le bloc commence à fondre vers 127-130°, mais le point de fusion vraiment instantanée se trouve vers 160-175°. Entre ces deux dernières températures l'instant où l'osazone atteint le bloc et l'instant de la fusion ne sont séparés que par des fractions de seconde dont la valeur numérique diminue de plus en plus quand la température se rapproche de 175-180°. L'osazone fondue a un aspect brun et lorsqu'elle séjourne sur le bloc elle se transforme rapidement en une masse charbonneuse sèche.

Formation de l'osazone directement sur le Défécât. — Cette opération a été pratiquée sur un Défécât au Patein traité à la baryte et neutralisé.

L'osazone obtenue se présente en petits cristaux aciculaires groupés en étoiles à gros noyaux et ayant absolument les mêmes caractères physiques que l'osazone obtenue sur le liquide de dissolution des culots. La seule différence que nous ayons observée c'est que par recristallisations successives nous n'avons jamais obtenu de gros cristaux. Les solubilités et le point de fusion sont absolument les mêmes.

Donc si nous retrouvons tous les caractères micro-cristallins de l'osazone de Bernier, ainsi que sa solubilité,

le point de fusion que nous obtenons est différent puis-que cet auteur indique 130-132°.

C'est pourquoi nous avons tenu à effectuer sur nos différents liquides, la réaction de Tollens qui est la réaction colorée classique de recherche de l'acide glycuronique.

Réactions de Tollens. — Dans un tube à essai on introduit 10 centimètres cubes de liquide à essayer (ne contenant pas de nitrates) puis 1 centimètre cube de solution alcoolique de naphthorésorcine à 1 % et 10 centimètres cubes d'acide chlorhydrique concentré ($D = 1,19$). On chauffe 10 minutes au B-M bouillant puis on refroidit ; on agite avec 10 centimètres cubes d'éther. La réaction est positive si l'éther se colore en rouge violet (permanganate). Cette coloration examinée au spectroscope présente une bande d'absorption caractéristique, placée dans le jaune vert et correspondant à la raie D.

Nous avons effectué cette réaction :

- 1° Sur un défécât;
- 2° Sur un liquide de dissolution du précipité cuprobarytique;
- 3° Sur l'osazone de l'urine, elle-même.

Afin d'avoir un étalon de comparaison nous avons préparé une solution de glycuronate de baryum par hydrolyse de l'acide euxanthique (par l'eau à 120-125° pendant 1 h.) comme l'indique Bernier. Nous avons préparé l'osazone glycuronique à partir de ce liquide qui contenait environ 4 p. 1000 de glycuronate de baryum. Cette osazone s'obtient très facilement même dans cette solution diluée. Son aspect micro-cristallin est semblable à l'un de ceux que nous avons observé pour une des nombreuses osazones préparées à partir de nos liquides d'extraction de l'urine (longues aiguilles en étoiles).

Nous avons donc effectué comparativement la réaction de

Tollens sur cette solution et son osazone d'une part, sur les liquides et l'osazone urinaires d'autre part. Les teintes obtenues dans tous les cas nous ont paru tout à fait comparables. De plus examinés au spectroscope, tous les spectres présentaient la bande d'absorption considérée comme caractéristique de l'acide glycuronique, placée dans le jaune vert et bien délimitée du côté du jaune. Ces spectres étaient exactement superposables (Appareil de Baudouin-Bénard).

Par contre nous avons fait la même réaction sur la glucosazone, qui nous a bien donné une solution éthérée violet rougeâtre, mais il nous a été impossible au spectroscope de retrouver la bande d'absorption signalée plus haut.

La conclusion qui s'impose c'est que, ainsi que l'affirme Bernier, *l'osazone extraite de l'urine paraît identique à la glycurossazone.*

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Dans la première partie du travail nous avons exposé les techniques analytiques que nous avons utilisées. Elles comportent pour la plupart certains tours de mains originaux; enfin nous publions pour certaines des chiffres qui en établissent la validité.

Dans la deuxième partie, nous avons d'abord étudié en détail le mécanisme de la précipitation du glucose à l'état de complexe cupro-barytique, aussi bien au point de vue pratique, en vue d'un entraînement maximum, qu'au point de vue théorique, pour établir la composition du précipité.

L'application au lévulose et au saccharose nous a révélé certaines particularités éclairant le mécanisme de la « peptisation » du précipité.

Nous avons ensuite généralisé cette réaction à toute une série d'autres sucres, puis montré que le précipité cupro-barytique était capable d'entraîner les polyols et le méthylglucoside β , étendant ainsi considérablement le champ d'action de la réaction de Salkowski.

Dans la troisième partie nous avons appliqué cette technique à l'étude du carbone glucidique de l'urine normale-

dans le but de déterminer son importance par rapport au carbone total indosé.

Accessoirement nous avons été amené à étudier la nature des glucides réducteurs de l'urine et à confirmer les résultats de L. Grimbert et R. Bernier sur la nature de l'osazone urinaire.

Vu : le Président de la thèse
L. GRIMBERT

Vu : le Doyen,
M. RADAIS

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris
S. CHARLETY

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. BAUDOUIN et LEWIN. — Une nouvelle méthode de dosage de petites quantités de sucre. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **9** 280, (1927).
2. BENCE-JONES. — Sur le sucre contenu dans l'urine normale. *Ann. chim. Phys.* **LXII**, (1861).
3. a) GRIMBERT (L.) et BERNIER (R.). — *Journ. Pharm. chim.* **30**, 529, (1909).
b) BERNIER (R.). — Sur la présence de l'acide glycuronique et de certains hydrates de carbone dans l'urine normale. Thèse. Fac. Pharm. Paris 1910.
4. BISSINGER. — Über Fällung des Traubenzuckers nach Salkowski-van Slyke. *Biochem. Zeits.* **168**, 421-422, (1926).
5. BOUGAULT (J.). — Nouvelle méthode de dosage des sucres aldéhydiques. *Journ. Pharm. Chim.* **7**, XVI, 97, (1917).
6. FLEURY (P.) et BOUTOT (L.). Etude du procédé de Lehmann modifié pour le dosage du glucose. Adaptation aux petites quantités de sucres réducteurs. *Journ. Pharm. Chim.* **7**, XXVI, 209, (1922).
7. FLEURY (P.) et LEVALTIER (H.). — Recherches sur le dosage de l'azote par la méthode de Kjeldahl et ses modifications. *Journ. Pharm. Chim.* **7**, XXIX, 137 (1924); XXX 265, (1924).
8. FOLIN (O.) et BERGLUND. — Some new observations and interpretations with reference to transportation, retention and excretion of carbohydrate. *Journ. of Biol. Chem.* **51**, 224 (1922).

9. FONTÈS (G.) et THIVOLLE (L.). — Recherches expérimentales sur le microdosage des substances glucidiques réductrices du sang. *Bull. Soc. Chim. Biol.* **9**, 353-445, (1927).
10. FRACHINI et SOMAZI. — Détermination de la glycérine par le bichromate. *Boll. del. Indust. degli. olei e dei grassi.* Oct. 1923.
11. FRANÇOIS (M.). — Manipulations de chimie analytique appliquée. Doin, édit. Paris 1919.
12. GREENWALD, GROSS et MAC-GUIRE. — Observations on the nature of the sugar of normal urine. *Journ. Biol. Chem.* **75**, 491-507 (1927).
13. GUIART (J.) et GRIMBERT (L.). — Précis de diagnostic. Lamarre 1922. 4^e ed.
14. HASSAN. — Glucose in normal urine. *Journ. Biol. chem.* **2**, 1332, (1928).
15. LAMBLING. — Précis de Biochimie. Masson, ed. Paris 1921.
16. LAWRIE (J.). — Glycerol and the Glycols. New-York 1928.
17. LUND et WOLF. — Glucose in normal urine. *Biochem. Journ.* **19**, 539 (1925).
18. MAQUENNE. — Les sucres et leurs principaux dérivés. Paris 1900.
19. MARQUE. — Contribution à l'étude de l'oxidimétrie du mercure. Action du chloriodomercurate alcalin sur les polyols et les corps voisins. Applications analytiques. Thèse Fac. Pharm. Paris 1929.
20. NICLOUX (M.). — Microdosage du carbone. Application à la détermination du carbone urinaire. *Bull. Soc. chim. Biol.* **9**, 639-670 (1927).
21. NICLOUX (M.). — Perfectionnement à l'appareil de Nicloux pour le microdosage du carbone et brèves remarques sur la technique de ce dernier **10**, 1271 (1928).
22. PATTERSON (J.). — The carbohydrate of normal urine. *Biochem. Journ.* **20**, 651-655, (1926).
23. PAUCHARD (E.). — Contribution à l'étude du dosage des sucres aldéhydiques par la méthode iodométrique. *Journ. Pharm. chim.* **3**, 248-255, (1926).
24. ROTH (H.). — Présence du glucose dans l'urine des sujets normaux. *C.R. Soc. Biol.* **CI**, 218, (1929).

25. SALKOWSKI (E.). — Über die Verbindungen des Traubenzuckers mit Kupferoxydhydrate. *Zeits. für. physiol. chem.* **3**, 79-97, (1879).
26. VAN SLYKE — Corps acétoniques de l'urine. *Journ. Biol. chem.* **32**, 464, (1917).
27. YOSHIMOTO. — Über die Fällbarkeit von Zuckerarten durch Kupferhydroxid. *Zeits. für. physiol. chem.* **56**, 425-444, (1908).
28. J. SMITH. — Über die Methoden für quantitativen Bestimmung der Mannits. *Zeits. Anal. Chem.* **53**, 473 (1914)

